

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ANTIGÈNES ET DES ANTICORPS STAPHYLOCOCCIQUES

par O. GENGOU.

(Laboratoire d'hygiène de l'Université de Bruxelles.)

De nombreux travaux ont été consacrés, depuis le début des recherches relatives à l'immunité humorale, tant à la nature qu'à la différenciation des antigènes microbiens. Au cours de ces études, les auteurs ont fréquemment mis en œuvre, en vue de démontrer la multiplicité des antigènes susceptibles d'être formés par une même espèce microbienne et de les séparer les uns des autres, des méthodes empruntées aux techniques chimiques.

Le staphylocoque pyogène nous a paru présenter, pour apporter une contribution à cette étude, certains avantages. En effet, les procédés utilisés dans la préparation des vaccins antistaphylococciques sont assez variés. On peut donc rechercher s'ils se caractérisent par des antigènes propres, ou s'ils ne constituent, au contraire, que des mélanges en proportions diverses, d'antigènes identiques — en apparence du moins.

En effet, indépendamment des émulsions microbiennes tuées

par la chaleur ou par d'autres moyens, Gratia et ses collaborateurs [1] ont fait connaître l'emploi, à titre préventif et surtout thérapeutique, de bactériophages et de mycolysats. Cet auteur a appelé « bactériophage staphylococcique » le liquide obtenu par la lyse bactériophagique de cultures staphylococciques en bouillon, le lysat étant ensuite filtré sur bougie Chamberland.

D'autre part, il a appelé « mycolysat » le liquide qu'on obtient en cultivant le *Streptothrix* en présence d'une épaisse émulsion de staphylocoques dans l'eau distillée. Dans ces conditions, ainsi que Gratia l'a constaté, l'émulsion est dissoute; filtrée sur bougie Chamberland, elle fournit un liquide parfaitement limpide.

D'autre part, certains staphylocoques produisent, comme on le sait, *in vitro*, avec une grande rapidité, une toxine mortelle pour certains animaux de laboratoire et capable de dissoudre hématies et leucocytes de lapin. Nous avons pu observer que cette action lytique s'étend aux hémotoblastes, ainsi qu'aux cellules de divers organes du même animal [2]. Burnet [3] a montré que cette toxine diffuse très rapidement en dehors du corps microbien et passe dans le milieu de culture, même quand celui-ci est solide comme la gélose. Il a montré en outre qu'additionnée de formol cette toxine se transforme aisément en anatoxine, et il a appliqué cette dernière à l'immunisation d'animaux de laboratoire.

Nos recherches sur ce point étaient déjà assez avancées, lorsque nous avons eu connaissance des résultats obtenus par Burnet [3], résultats qui ont été confirmés et étendus par cet auteur dans un travail récent [4]. Au reste, si plusieurs de nos expériences se rapprochent à différents égards de celles de Burnet, elles ont eu pour la plus grande partie une autre orientation, ayant essentiellement pour but l'étude de certains des produits staphylococciques au point de vue des antigènes qu'ils contiennent, ainsi que des propriétés des divers sérums obtenus par leur emploi dans la vaccination des petits animaux de laboratoire.

*
* * *

Comme divers auteurs et nous-même l'avons décrit précédemment, on peut obtenir la toxine staphylococcique en se

servant de divers milieux, voire les plus usuels, comme la gélose et le bouillon. La production en est cependant considérablement facilitée, quand le milieu a un pH de 7 à 7,2 et que la culture se fait en présence d'une atmosphère contenant une certaine quantité (au maximum 20 p. 100) d'anhydride carbonique. Ces conditions sont même nécessaires à l'obtention de toxine aux dépens de certaines souches.

Par contre, l'action lytique du bactériophage s'exerce particulièrement bien dans des cultures de $pH = 7,6$. Or, bien que de nombreuses souches staphylococciques sécrètent leur toxine dans des milieux ayant cette réaction, les vaccins dits « bactériophages » ne contiennent pas de toxine. Ils sont dépourvus aussi bien de tout pouvoir lytique *in vitro* à l'égard des hématies de lapin que de toute action toxique *in vivo*.

On pourrait présumer que ce fait résulte non de l'absence de production de toxine lors du développement microbien, mais de la destruction par le bactériophage de la toxine formée, concurremment à la dissolution par cet agent des germes staphylococciques.

Il n'en est rien : en effet, mis en contact d'une quantité, même faible, de toxine staphylococcique, le bactériophage, même employé à dose élevée, n'en atténue en rien l'activité. Le pouvoir hémolytique *in vitro* de la toxine comme son action toxique *in vivo* restent intacts.

L'absence de toxine dans le vaccin « bactériophage » est due à ce que le bactériophage dissout les germes staphylococciques, lorsque la culture est encore à ses débuts et que les microbes n'ont pas encore sécrété de toxine.

La toxine est également absente des émulsions microbiennes, lorsque celles-ci sont obtenues de cultures sur gélose et que les germes ont été lavés à l'eau physiologique. La toxine staphylococcique est, en effet, comme nous l'avons dit, particulièrement diffusible, de sorte qu'un simple lavage des cocci les débarrasse de toute toxine.

*
* *

La facilité avec laquelle on peut obtenir, en se servant du staphylocoque pyogène, soit un bouillon toxique susceptible

d'être transformé en anatoxine, soit des vaccins staphylococciques (émulsions bactériennes, bactériophage, mycolysat), permet de rechercher si, lors de l'immunisation contre un germe déterminé, la production d'une antitoxine requiert d'une manière absolue l'injection de toxine ou d'anatoxine, ou si, au contraire, elle peut être réalisée par l'emploi d'autres vaccins issus du même germe, privés de toxine, mais contenant des antigènes de même origine.

A cette fin, nous avons vacciné des animaux soit au moyen d'émulsions staphylococciques lavées et tuées par le formol à 1 p. 100, soit d'anatoxine, soit de vaccin bactériophage.

Il nous a été facile de montrer, comme Burnet [3] l'avait déjà fait, que le sérum de lapin vacciné contre l'anatoxine neutralise *in vitro* la toxine staphylococcique, de sorte que l'injection de ce mélange sous la peau d'un lapin neuf est absolument inoffensive. Mais nous avons constaté qu'au contraire l'addition *in vitro* à la toxine de sérum de lapin injecté d'émulsion microbienne formolée ou de bactériophage, laisse intactes, tout comme le sérum neuf, les propriétés nocives de la toxine. Suivant la dose de toxine employée, le mélange injecté sous la peau d'un animal détermine alors soit un œdème considérable suivi d'escarre, soit la mort.

Burnet [3] a montré antérieurement que tout sérum anti-staphylococcique qui est antitoxique, neutralise en même temps *in vitro* le pouvoir lytique de la staphylotoxine. Il n'est donc pas étonnant que Gratia et Alexander [5] d'une part, comme nous-même de l'autre, ayons observé que le pouvoir antilytique du sérum d'animaux vaccinés contre l'anatoxine est absent dans le sérum de lapins vaccinés par injection d'émulsions microbiennes ou de bactériophage.

La toxine staphylococcique se comporte donc comme un antigène distinct, que l'on obtient aisément grâce à certaines conditions de culture, mais qui fait défaut dans plusieurs des produits employés comme vaccins antistaphylococciques.

L'utilisation de ces derniers ne provoque pas la formation d'antitoxine, malgré les antigènes qu'ils contiennent. La production d'antitoxine réclame la vaccination au moyen de toxine ou d'anatoxine.

*
* *

Ramon [6] a mis en évidence, il y a quelques années, la propriété que possèdent la toxine et l'anatoxine diphtériques d'être précipitables par le sérum antidiphtérique. Il a tiré de cette propriété un mode de titrage du sérum.

De même la toxine et l'anatoxine staphylococciques sont précipitées par le sérum antistaphylotoxique (Burnet [4]).

Or, l'étude de ce phénomène confirme, par deux groupes de faits, la notion énoncée ci-dessus que la toxine staphylococcique constitue un antigène particulier, nettement distinct des autres antigènes provenant du staphylocoque pyogène.

Remarquons tout d'abord que les bouillons de culture de staphylocoques, filtrés sur bougie Chamberland, ne sont précipités par un sérum antistaphylotoxique que s'ils contiennent de la toxine hémolytique. Lorsqu'un staphylocoque ne produit pas *in vitro* de toxine, le liquide filtré est en même temps privé de tout antigène précipitable par un sérum antitypique.

D'autre part, nous avons vu précédemment que, mélangé, même à forte dose, à une petite quantité de staphylotoxine, le bactériophage staphylococcique en respecte le pouvoir lytique. De même, il respecte sa propriété d'être précipitable par un sérum antistaphylotoxique. Pouvoir lytique et caractère précipitable apparaissent ainsi comme étant l'apanage d'une seule et même substance.

Ce dernier fait permet de rechercher si la dissolution des staphylocoques par le bactériophage n'aboutit pas à la mise en liberté dans le liquide de substances qui soient comme la toxine staphylococcique précipitables par un sérum antistaphylotoxique. Il n'en est rien.

Disposant d'un staphylocoque pyogène ne produisant pas de lysine *in vitro*, on le cultive en bouillon de $pH = 7,2$, pendant quatre jours, en présence d'une atmosphère contenant 15 p. 100 de CO_2 , conditions favorables à la production de toxine. La culture centrifugée nous fournit un liquide qui, après filtration sur bougie, se montre privé de tout pouvoir lytique ou toxique et n'est pas précipité par un sérum antistaphylococcique. Elle nous fournit en outre un sédiment très abondant de cocci, que

l'on délaye dans du bouillon de $pH = 7,6$ et que l'on maintient quarante-huit heures à 37° , après l'avoir additionné de quelques gouttes de bactériophage staphylococcique. La culture, bien clarifiée par comparaison avec un ballon témoin contenant le même mélange sans bactériophage, puis filtrée sur bougie, se montre riche en bactériophage, mais privée à la fois de tout pouvoir lytique ou toxique et de tout antigène précipitable par un sérum antistaphylotoxique.

Il en est du reste de même si l'on emploie un staphylocoque susceptible de produire d'abondantes quantités de toxine en bouillon de $pH = 7,2$, en atmosphère de CO_2 . Le sédiment de cocci, séparé du liquide toxique par centrifugation, mis ensuite en suspension dans du bouillon de $pH = 7,6$, puis soumis pendant deux jours à la lyse par le bactériophage, fournit un liquide riche en bactériophage, mais qui n'est ni toxique, ni lytique, ni précipitable par le sérum antistaphylotoxique. Le même microbe, après nous avoir fourni un liquide contenant la toxine précipitable, nous livre donc un lysat bactérien, riche en antigènes staphylococciques, mais distincts de l'antigène toxique.

Si nous envisageons l'ensemble de ces faits, tout paraît se passer comme si toxine et antigène précipitable par un sérum antitoxique se confondaient en une seule et même substance. Par contre, celle-ci semble, au point de vue de la précipitation spécifique comme au point de vue de la toxicité et du pouvoir lytique, distincte des autres antigènes produits par le staphylocoque.

Cette dernière notion paraît ressortir encore, ainsi que nous l'avons annoncé plus haut, d'un second groupe de faits : de même que seul est antitoxique et antilytique le sérum de lapins injectés de toxine et d'anatoxine, seul ce sérum précipite la toxine et l'anatoxine staphylococciques. Les sérums de lapins injectés soit d'émulsions microbiennes formolées, soit de « bactériophage staphylococcique », se montrent privés de cette dernière propriété, de même qu'ils sont dénués de tout pouvoir antilytique ou antitoxique.

A vrai dire, il arrive parfois qu'un sérum d'animal injecté de bactériophage, soit très légèrement antitoxique et très légèrement précipitant pour la toxine. Il est vraisemblable que ce

fait résulte de ce que, cultivé en bouillon de $pH = 7,6$ en présence de bactériophage, le staphylocoque sécrète parfois une petite quantité de toxine avant de subir la lyse bactériophagique.

Mais l'action antitoxique et précipitante d'un seul sérum est notablement plus faible que les pouvoirs correspondants des antisérums obtenus par l'injection de toxine ou d'anatoxine. Non seulement ceux-ci sont considérablement plus actifs, mais l'intensité de leur pouvoir précipitant respectif est parallèle à celle de leur activité antitoxique et de leur action antilytique.

* *

La possibilité de recourir, pour réaliser la vaccination anti-staphylococcique d'animaux de laboratoire, à des vaccins divers (émulsions bactériennes, anatoxine, staphyphage) se différenciant nettement les uns des autres par la nature de leurs antigènes, quoique ceux-ci soient tous d'origine staphylococcique, nous a incité à rechercher si certains sont susceptibles de conférer au lapin une résistance particulièrement prononcée contre l'infection staphylococcique expérimentale.

Nous avons utilisé de la sorte :

a) Des émulsions de staphylocoques (cultures de vingt-quatre heures sur gélose de $pH = 7,6$, délayées dans 25 cent. cubes d'eau physiologique additionnée de 1 p. 100 de formoline et maintenues trois jours à 37° sous l'action de cette substance);

b) L'anatoxine staphylococcique (cultures en bouillon de $pH = 7,2$, en atmosphère de CO_2 , filtrées sur bougie après quatre à six jours, additionnées de 3 p. 1.000 de formoline et maintenues trois jours à 37°);

c) Des cultures staphylococciques en bouillon de $pH = 7,6$, lysées par le bactériophage et filtrées sur bougie Chamberland;

d) Un mélange à parties égales d'anatoxine et d'émulsions bactériennes formolées;

e) Un mélange à parties égales d'anatoxine et de bactériophage.

Après avoir reçu respectivement, en l'espace d'un mois, 10 injections sous-cutanées de 1 cent. cube à 5 cent. cubes de

ces vaccins, les lapins furent éprouvés par l'injection, soit sous-cutanée, soit intraveineuse, de staphylocoques obtenus en culture sur gélose, en dose double de la dose mortelle pour un animal neuf.

Hâtons-nous de dire qu'aucun de ces procédés de vaccination ne s'est distingué par une efficacité particulièrement grande.

Aucun d'eux ne conféra aux animaux une immunité leur permettant de résister à l'injection intraveineuse. Nous n'avons obtenu à cet égard qu'une légère survie chez les animaux vaccinés par les émulsions microbiennes, et une survie nette chez les lapins vaccinés par l'anatoxine.

Les lésions observées à l'autopsie s'écartent, à vrai dire, d'autant plus de celles que présente l'animal neuf injecté d'une dose mortelle dans les veines, que la survie est plus longue. L'injection intraveineuse à l'animal neuf des staphylocoques que nous avons utilisés provoque d'abondants exsudats rougeâtres dans le péritoine, les cavités pleurales et surtout dans la cavité péricardique avec dégénérescence cardiaque et rénale et présence du cocci dans le sang. Il est habituel d'observer, en outre, des abcès souvent nombreux, siégeant surtout dans les reins, mais avec une prédilection particulière dans le muscle cardiaque, qui en est parfois criblé.

Par contre, chez les animaux vaccinés, survivant quelque temps à l'injection intraveineuse, par exemple chez les lapins vaccinés par l'anatoxine, on n'observe pas d'exsudats dans les cavités splanchniques. Le sang ne donne que parfois une culture positive. Les abcès sont rares et petits dans le cœur, le foie et les reins.

Contrairement à ce que l'on observe chez les animaux vaccinés à la suite de l'injection intraveineuse de staphylocoques vivants, certains d'entre eux résistent à une injection sous-cutanée double de la dose mortelle pour l'animal neuf. Chez ce dernier, cette injection détermine la formation d'un œdème sous-cutané rougeâtre, extrêmement abondant, l'autopsie montrant les lésions et les épanchements observés à la suite d'une injection intraveineuse.

Par contre, les lapins vaccinés résistent généralement à l'injection sous-cutanée. Celle-ci ne les laisse cependant pas

totalemt indifférents; elle détermine habituellement la formation d'un abcès plus ou moins volumineux, contenant un pus extrêmement épais et n'ayant aucune tendance à s'évacuer au dehors.

Cependant, cette résistance relative peut faire défaut chez un certain nombre de lapins vaccinés soit par des émulsions bactériennes formolées, soit par le bactériophage. Dans ce cas, l'animal succombe en présentant des lésions s'écartant peu de celles des animaux neufs.

Par contre, nous avons toujours rencontré cette résistance relative chez les animaux vaccinés à l'anatoxine.

Il est bien évident que cette constatation n'autoriserait nullement à conclure à la supériorité de l'anatoxine staphylococcique comme moyen de vaccination contre le staphylocoque pyogène. Une conclusion semblable serait d'autant moins justifiée que ce mode de vaccination, ainsi que nous l'avons vu, ne prévient pas les conséquences d'une injection intraveineuse expérimentale.

Il nous paraît cependant opportun de faire à cet égard une remarque : s'il est habituel d'utiliser, en vue de prévenir ou de guérir les infections susceptibles de se généraliser dans l'organisme, les antigènes contenus dans les émulsions bactériennes, tuées par le formol ou la chaleur, ou lysées par le bactériophage, il est par contre commun d'employer toxine et anatoxine pour réaliser l'immunité contre les infections à type dit localisé. Or, nous venons de voir, la vaccination par l'anatoxine staphylococcique, qui renferme un antigène propre, distinct de ceux des émulsions microbiennes, confère une résistance relative à l'égard d'une infection qui, chez l'animal neuf, conduit habituellement à l'envahissement de l'organisme par le germe bactérien.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. GRATIA. *Soc. de Biol.*, 1924, **91**, p. 1442; 1925, **92**, p. 461 et 1125; **93**, p. 451; 1926, **94**, p. 1267.
- [2] GENGOU. *Arch. intern. de méd. expér.*, **4**, 1930, p. 633.
- [3] BURNET. *J. of Pathol. and Bacter.*, **22**, n° 4; **33**, n° 1.
- [4] BURNET. *Id.*, **34**, n° 4, p. 471.
- [5] GRATIA et ALEXANDER. *Soc. de Biol.*, 1930, p. 1058.
- [6] RAMON. *Soc. de Biol.*, **97**, 1927, p. 635.

ÉTUDES SUR L'ULTRAVIRUS TUBERCULEUX

par G. SANARELLI et A. ALESSANDRINI.

(*Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.*)

(PREMIER MÉMOIRE)

I. — Les ultrafiltres de collodion éliminent les objections faites aux autres méthodes employées jusqu'à présent pour la démonstration de l'ultravirus tuberculeux.

Les critiques et les doutes au sujet de la filtrabilité du virus tuberculeux ont été soulevés, surtout en ce qui concerne la technique, les erreurs et les défauts de la filtration.

En entreprenant ces recherches nous avons tâché d'éliminer, tout d'abord, ces motifs de débat.

Il y a bien des années que l'un de nous (1) a démontré, le premier, le pouvoir filtrant des membranes semi-perméables, en introduisant en microbiologie l'emploi des sacs de collodion, qui ont aussi rendu tant de services à la chimie pour l'étude des colloïdes.

Sur l'emploi de ces sacs en microbiologie, on a déjà publié une grande quantité de travaux, soigneusement cités, jusqu'en 1921, dans une monographie de L. Verney (2).

Il est désormais bien démontré que les parois de ces sacs se comportent comme des ultrafiltres, c'est-à-dire qu'elles ne se laissent traverser ni par les microbes, ni par tout autre élément morphologiquement organisé. Elles se laissent, au contraire, traverser facilement, *in vitro*, par les liquides dans lesquels on

(1) SANARELLI, Le cause dell' immunità naturale contro il carbonchio. *La Riforma Medica*, 1891, vol. I. p. 421. Die Ursachen der natürlichen Immunität gegen den Milzbrand. *Centralbl. für Bakter.*, 1891, p. 467. La destruction du virus charbonneux sous la peau des animaux sensibles. Ces *Annales*, 1893, p. 820.

(2) I sacchetti di collodio in microbiologia. *Annali d'Igiene*, 1921, p. 626.

les plonge, et *in vivo* (par exemple dans le péritoine et sous la peau) par les sucs organiques.

Si l'on confectionne bien ces ultrafiltres, les microbes qu'on y renferme ne peuvent pas en traverser les parois, sauf dans le cas où ces microbes eux-mêmes soient capables de produire des éléments filtrables. Nous avons vérifié que les sacs de collodion bien scellés et contenant des bacilles du tétanos, des bactériidies du charbon, des vibrions cholériques, des staphylocoques, etc., peuvent rester longtemps dans le péritoine ou dans le tissu sous-cutané des animaux les plus sensibles (1), sans donner lieu à des manifestations pathologiques ni à aucun trouble, même léger.

A l'intérieur des sacs de collodion, les microbes peuvent se multiplier plus ou moins bien, mais ils n'en sortent jamais.

La question de la perméabilité ou de l'imperméabilité vis-à-vis des bactéries, qui a soulevé tant de discussions pour ce qui est des filtres ordinaires de porcelaine ou de terre d'infusoires, n'a donc aucune raison d'être pour les ultrafiltres de collodion.

On doit avant tout remarquer que, par leur très mince épaisseur, ces filtres ne se comportent pas comme les bougies filtrantes ordinaires. On sait que ces bougies n'arrêtent pas les microbes comme le feraient des cribles, c'est-à-dire parce que leurs pores sont plus petits que les microbes. Elles arrêtent ceux-ci parce que, en vertu d'un phénomène bien connu d'adsorption, ils sont attirés et fixés par les pores des bougies.

En effet, d'après une étude de Stuart Mudd (2), citée par Veratti (3), le diamètre moyen des pores des filtres Berkefeld normaux, serait de 4 microns environ, et celui des bougies Chamberland L₃ d'environ 2 microns 1/2. Hauduroy (4) écrit que les pores les plus petits des filtres de porcelaine ont un diamètre d'environ 2 microns. Ceux des bougies Berkefeld W ont

(1) SANARELLI, Come si distrugge il virus carbonchioso nel tessuto sottocutaneo degli animali non immuni. *Rivista internazionale d'Igiene*, 1891, p. 454-517.

(2) Filters and filtration; in M. T. RIVERS, *Filterables viruses*, London, 1928.

(3) Esiste un virus tubercolare sotto forma diversa del bacillo di Koch? *Rivista di Patologia e Clinica della Tuberculosis*, 1930, p. 194.

(4) Les ultravirus et les formes filtrantes des microbes. Paris, 1929, p. 94 et 190.

un diamètre moyen de 3 à 4 microns; des bougies N, de 5 à 7 microns; des bougies V, de 8 à 12 microns.

Casagrandi affirme (1) aussi que, pour les meilleures bougies, il est bien difficile que les dimensions des pores soient inférieures à quelques microns. Donc, les pores des filtres ordinaires sont toujours plus grands que l'épaisseur de la plupart des bactéries qui est toujours inférieure à 1 micron.

C'est pour ce motif que, lors de la filtration de liquides contenant des bactéries à travers les bougies poreuses ordinaires, on a soin de ne pas prolonger la filtration au delà de huit à dix minutes et de se limiter à une dépression modérée (ne dépassant pas 20 cent. de mercure) afin de ne pas s'exposer au danger que les bactéries, absorbées d'abord, se déplacent le long des parois des canalicules et des lacunes intercommunicantes des filtres, et passent dans le filtrat.

Donc, puisqu'il n'est pas exclu que, dans la filtration à travers les bougies de porcelaine, puisse se glisser quelque faute de la part de l'opérateur, on a craint que, dans la filtration de cultures ou de produits tuberculeux, puissent, au lieu de l'ultravirus, passer quelques rares bacilles ou des fragments bacillaires. C'est ainsi que quelques auteurs prétendent expliquer les résultats positifs des injections de filtrats. Mais cette crainte n'est pas justifiée pour les motifs suivants :

1° D'abord, parce qu'avant de commencer la filtration du matériel, on ajoute à celui-ci quelques gouttes de culture d'un microbe très petit, facilement cultivable (par exemple, le bacille du choléra des poules), qui sert de contrôle; 2° ensuite, parce que le processus déterminé chez les cobayes par les filtrats tuberculeux est toujours très différent de celui qui est provoqué par une infection bacillaire normale, même si celle-ci est *paucibacillaire*.

On ne peut cependant exclure d'une manière absolue que, malgré toutes les précautions, l'emploi des bougies poreuses puisse donner lieu au soupçon d'erreurs. En effet, on connaît encore très mal les règles de la filtration, ainsi que la nature intime des phénomènes d'adsorption, qui exercent une influence importante dans la filtration.

(1) Studi sull'ultravirus tuberculare. Padova, 1931, p. 7.

Ces phénomènes sont surtout influencés par la réaction, acide ou alcaline, du matériel à filtrer. En général, l'alcalinité facilite beaucoup la filtration. On sait, par exemple, que les spores d'*Aspergillus niger* ne passent pas à travers le simple papier à filtre si le liquide a une réaction neutre vis-à-vis du méthylorange, tandis que les mêmes spores passent très bien quand le liquide est neutre vis-à-vis de la phénolphthaléine. La toxine botulinique filtre bien quand elle a un $pH = 7,0$ à $5,5$, mais ne passe plus quand le $pH = 4$.

Hauduroy arrive même à dire (1) qu'« à l'heure actuelle, il n'est plus permis de faire une filtration sans indiquer d'une façon précise le pH de la solution dans laquelle se trouve le produit ou le microorganisme à filtrer ».

Le signe électrique des bougies exerce aussi une grande influence sur la filtration. Les bougies de porcelaine ont une charge électrique négative. Mais, si elles sont fabriquées, par exemple, avec addition de craie ou d'oxyde de magnésium, elles prennent une charge électrique positive. Dans ce cas, comme l'a démontré Kramer (2), les ultravirus, par exemple celui de la maladie de la mosaïque du tabac, ainsi que le bactériophage, la toxine diphtérique, etc., ne passent plus.

La viscosité, le contenu en albumine du liquide à filtrer et la possibilité d'un colmatage, ont, eux aussi, leur importance, ainsi que la durée de la filtration, la pression, etc.

On comprend donc facilement que, dans certains cas, un ultravirus puisse être arrêté par une bougie filtrante, tandis que dans d'autres il filtre sans aucune difficulté. Il faut aussi admettre qu'une partie plus ou moins notable d'un ultravirus s'arrête dans les pores de la bougie. C'est pour cela qu'on recommande d'injecter toujours, chez les animaux d'expérience, la plus grande quantité possible de filtrat.

Telles sont les raisons pour lesquelles, au III^e Congrès national de Microbiologie de Milan (mai 1931), Puntoni (3) a dit que « dans toute contribution expérimentale, au sujet des virus filtrables, ce qui a le plus de valeur, ce sont les résultats positifs et non les résultats négatifs » !

(1) *Loc. cit.*, p. 496.

(2) Bacterial filters. *Journal of Infect. Diseases*, vol. XL, 1927, p. 343.

(3) Atti del III Congresso Naz. di Microbiologia. Milano, 1931, p. 202.

Et c'est pourquoi, désirant apporter notre contribution à l'étude de l'ultravirus tuberculeux, nous avons préféré n'employer que les filtres de collodion.

Les parois de collodion de nos ultrafiltres, par leur extrême ténuité et par leur grain homogène, non seulement ne laissent pas passer les microbes visibles, mais elles ne se laissent même pas traverser par diverses substances à l'état colloïdal. D'après les expériences de Stassano et de Beaufort (1), elles ne laissent passer que les substances à l'état de molécules relativement petites. Les pores ultracapillaires des sacs de collodion ont un diamètre tellement menu qu'aucun élément morphologiquement organisé ne peut les franchir. Ils sont invisibles au microscope. Bien plus, on ne devrait pas parler, dans de tels cas, de véritables pores, mais de simples espaces intermicellaires. En effet, on ne doit pas considérer une paroi de collodion comme une couche poreuse, mais bien comme une substance gélifiée comparable à une membrane cellulaire quelconque. Or, on sait que les micelles qui forment les membranes cellulaires n'adhèrent pas entre elles, qu'elles sont seulement rapprochées les unes des autres et séparées par une couche d'eau qui représente ainsi un espace intermicellaire. Le passage à travers les parois de collodion n'est donc pas un passage par des pores, mais bien à travers des espaces intermicellaires.

On comprend que ces espaces soient d'autant plus petits que la paroi de collodion est plus dense, et d'autant plus amples au contraire que cette paroi est moins compacte. D'où la nécessité, dans ce genre de recherches, d'employer des sacs de collodion à parois d'une structure aussi uniforme que possible.

Dans ces cas, l'unité de mesure, comme on le sait, est le *millicron* qui équivaut à un millième de *micron*, ou un millionième de millimètre. Si l'on veut se former une idée de l'extrême petitesse de ces dimensions, on peut penser que le bacille tuberculeux présente de 4.000 à 3.000 millicrons, tandis que les dimensions de quelques virus filtrables (herpès, encéphalite, rage, vaccin, etc.) ne dépassent pas 30 millicrons, c'est-à-dire

(1) Le principe lytique transmissible soumis au critérium de l'ultrafiltration ou filtration moléculaire. *C. R. de la Société de Biologie*, 93, 1925, p. 1378.

qu'ils ont les dimensions des corpuscules du collargol colloïdal (1).

A cause de cette extrême petitesse, dont la visibilité ne peut pas même être appréciée avec les objectifs qui ont les plus grandes ouvertures numériques, les ultramicrobes sont invisibles aux plus puissants grossissements du microscope.

Les pores des sacs de collodion, par leurs dimensions de quelques millicrons seulement (quelques auteurs croient même qu'elles ne dépassent pas un millicron) (2), ne peuvent laisser passer des éléments visibles et par conséquent ni bacilles tuberculeux, ni fragments de ces bacilles, quoique réduits aux plus petites dimensions.

D'après les expériences de H. Meyeringh (3), qui a employé les membranes de Zsigmondy-Bachmann (qui ne peuvent être aucunement comparées avec nos membranes de collodion), le *B. coli* est arrêté par des pores de 1,7 micron de diamètre, et le vibron cholérique par des pores de 1-1,3 micron, c'est-à-dire 1.000 fois plus grands que ceux de nos sacs de collodion pur!

C'est pour cela que Hauduroy a dit que « les ultravirus semblent mieux ultrafiltrer que filtrer » Leur passage à travers les membranes de collodion est plus facile et plus régulier (4).

Contre les premiers résultats expérimentaux sur le virus tuberculeux filtrable, basés sur l'imperméabilité absolue des sacs de collodion et communiqués par nous dès juillet 1930 (5), on a soulevé des objections banales : la possible imperfection des sacs ou l'existence de fentes produites dans leurs parois.

Nous nous hâtons de dissiper toute préoccupation de cette sorte. D'abord il y a un moyen facile et sûr pour vérifier, chaque fois, l'intégrité parfaite d'un sac de collodion contenant par exemple des bacilles tuberculeux et qui a séjourné pendant quelque temps dans le péritoine ou dans une poche sous-cutanée chez un cobaye ou un lapin. C'est celui-ci, par exemple :

(1) A. PLICRET, Les ultravirus. *La Presse Médicale*, 17 mai 1930, p. 675.

(2) Gli ultrafiltri nella pratica. *Diagnostica e Tecnica di Laboratorio*, Napoli 1930, vol. I, p. 47.

(3) Über Bakterienfiltration mit Zsigmondy-Bachmann-Filtern (Membranfiltern) *Zeitsch. für Hygiene*, 1923, 97, p. 116.

(4) *Loc. cit.* p. 213.

(5) Démonstration *in vivo* et *in vitro* des formes filtrantes du virus tuberculeux. *C. R. Soc. de Biologie*, 104, 1930, p. 1241.

On sait que les bacilles tuberculeux sont doués d'un remarquable pouvoir chimiotactique ou d'attraction vis-à-vis des leucocytes. A cause de cela, la fente la plus microscopique du sac permettrait une migration leucocytaire si abondante et si rapide dans l'intérieur du sac lui-même, que son contenu serait troublé. Ce fait serait remarqué tout de suite. De toute façon, un simple examen microscopique lèverait tous les doutes.

Nous dirons même plus. Dès le commencement de nos recherches (1929) nous avons voulu nous rendre compte si les parois de nos sacs de collodion, introduits dans le péritoine de cobayes, laissaient passer à l'extérieur certains poisons microbiens de toxicité bien connue. Dans ce but, nous avons introduit dans le péritoine de quelques cobayes, du poids de 300 grammes, des sacs de collodion contenant environ 1.000 doses mortelles de toxine tétanique à l'état sec, préparée par l'Institut Sérothérapique de Milan et dissoutes dans 1 cent. cube de solution physiologique, ou 500 doses mortelles de toxine diphtérique préparée par les Laboratoires Scientifiques de la Santé Publique de Rome. Après une perte de poids transitoire, tous les cobayes ont survécu.

En outre, des expériences analogues faites antérieurement nous avaient fait constater que les cobayes supportent impunément, dans le péritoine, des sacs de collodion remplis de cultures charbonneuses sporulées.

Enfin, il est bien évident que, s'il existe des fentes accidentelles sur les parois des sacs, la sortie des bacilles tuberculeux détermine toujours une tuberculose généralisée typique, jamais une tuberculose du type Calmette-Valtis.

Ces diverses constatations nous avaient, par conséquent, démontré que nos sacs étaient correctement préparés.

L'emploi des sacs de collodion nous a donc paru très indiqué pour aborder la solution du problème de l'existence si discutée de l'ultravirus tuberculeux. A cet égard nous rapportons les paroles d'Hauduroy qui, dans sa monographie des ultravirus, a mis en évidence les inconvénients qui peuvent résulter de l'emploi des bougies de porcelaine ou de terre d'infusoires : « A notre avis, la filtration à travers les parois des bougies de porcelaine, de terre d'infusoires, de kaolin, etc., ne doit plus être utilisée dans la recherche scientifique. Elle doit être

remplacée par l'ultrafiltration à travers les membranes de collodion, plus sûre, plus constante et qui a toujours donné, quand on l'a essayée, de bien meilleurs résultats. » « C'est là un procédé déjà vieux puisqu'il fut employé par Sanarelli en 1891 pour la première fois (1). »

II. — L'emploi des sacs de collodion permet de démontrer, d'une façon certaine, l'existence et les principaux caractères de l'ultravirus tuberculeux.

1^{re} PRÉPARATION DES ULTRAFILTRES DE COLLODION.

Puisque le succès et la valeur de ces recherches dépendent de la préparation parfaite des sacs, de leur stérilisation et de leur fermeture hermétique, nous pensons qu'il ne sera pas inutile de décrire en détail ces opérations successives.

A l'Institut d'Hygiène de Rome on prépare les sacs de collodion (fig. 1) avec une solution de coton nitrique à 4 p. 100 dans de l'alcool-éther; ce qui correspond à peu près à la composition du collodion employé pour la première fois par l'un de nous, en 1891.

Voici la formule :

Alcool à 96°, en centimètres cubes	250
Ether à 65°, en centimètres cubes.	750
Coton nitrique, en grammes.	40

Le petit cylindre de collodion est confectionné en plongeant la baguette de verre, savoir le moule, par trois fois consécutives dans le collodion jusqu'au niveau désiré, en ayant soin de laisser chaque fois évaporer quelque peu d'éther. On obtient ainsi un sac avec des parois en triple couche.

Après avoir ôté le moule, le petit cylindre de collodion (b) est plongé et tenu pendant une semaine dans de l'alcool à 70°, où il acquiert la résistance nécessaire pour être ensuite fixé et

(1) *Loc. cit.*, 189, p. 8.

serré solidement avec un fil de soie stérilisé, autour d'une petite ampoule de 1 cent. cube coupée à moitié (*a c*).

Le collet et le lien de soie sont ensuite recouverts d'une couche dense de collodion (*d*).

Pendant toutes ces opérations on doit procéder avec vitesse et dextérité afin d'éviter un dessèchement excessif du sac de collodion. Confectionné ainsi, le sac est prêt à être stérilisé.

STÉRILISATION DES ULTRAFILTRES — C'est une opération d'importance fondamentale, car il s'agit d'obtenir cette stérilisation

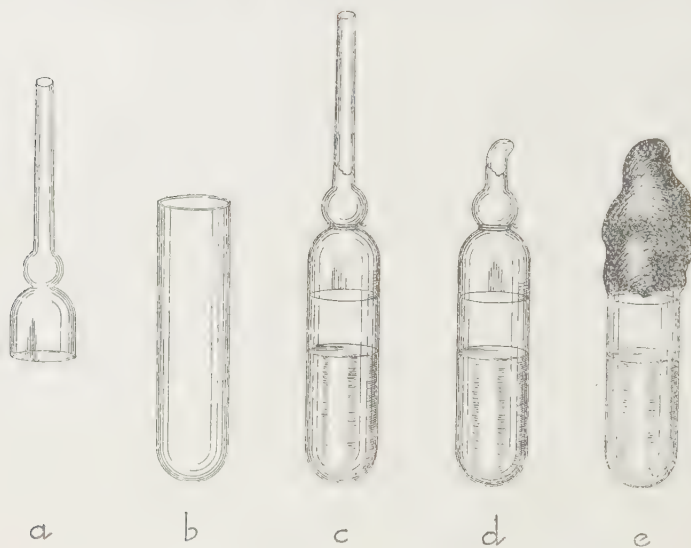


FIG. 1.

sans nuire à la solidité, ni à l'élasticité, ni à la perméabilité des sacs.

Toutes les méthodes indiquées dans les traités présentent des défauts. L'emploi de l'autoclave, de la vapeur, le dénitrage, etc., ne sont pas à recommander. Malgré toutes les précautions, ces procédés rendent les sacs presque inutilisables.

Notre pratique nous a conduit à employer le procédé suivant qui nous a paru recommandable à tous égards.

Aussitôt qu'on a extrait les sacs de l'alcool, on les vide au

moyen d'une pipette stérile et on substitue à l'alcool un désinfectant qui a la composition suivante :

Acide phénique, en grammes	2
Acide tartrique, en grammes	2
Eau distillée, en centimètres cubes	400

Lorsqu'on a rempli les sacs avec ce désinfectant, on les place dans de grandes éprouvettes remplies du même liquide, de manière que le sac, effilure comprise, y reste entièrement plongé. Ces éprouvettes doivent demeurer dans l'étuve à 37° pendant quatre jours.

Après ce traitement, on peut considérer les sacs comme parfaitement stériles, sans qu'ils aient été le moindrement endommagés, et les spores les plus résistantes ont été tuées.

Après le quatrième jour, on extrait les sacs des éprouvettes et, au moyen de pipettes, on remplace le désinfectant par de l'eau distillée stérilisée avec laquelle, en même temps, on effectue un soigneux lavage de l'intérieur des sacs. Ensuite, on passe et on plonge complètement ces derniers dans d'autres grandes éprouvettes remplies d'eau distillée stérilisée, dans laquelle ils sont laissés pendant une semaine au moins, afin que les parois de collodion puissent se débarrasser des plus petites traces du désinfectant.

Après cela, les sacs sont prêts pour être utilisés. On peut les laisser dans leurs éprouvettes, dans l'eau distillée, pendant un temps quelconque.

REPLISSAGE DES ULTRAFILTRES. — Lorsqu'on veut utiliser ces sacs, on les extrait avec précaution, au moyen de pinces flambées, de leurs éprouvettes. Avec une pipette, on en aspire l'eau et à l'aide d'une autre pipette très effilée on introduit à travers l'effilure du sac la culture microbienne ou le matériel infectant, en ayant soin de ne pas déterminer le moindre refflux par l'ouverture. Après cela on scelle l'effilure à la flamme d'une veilleuse, le plus près possible du col de l'ampoule (*d*).

A ce moment l'opération, exécutée avec toutes les précautions nécessaires, pourrait être considérée comme terminée. Mais, pour exclure de la manière la plus absolue toute possibilité d'imperfections accidentelles au niveau du point le plus

vulnérable, savoir au niveau de la soudure, on pratiquera une dernière opération.

On saisit avec une pince bivalve le sac vers son fond et on le plonge par l'extrémité opposée, c'est-à-dire par le bout scellé à la flamme et muni du lien de soie, deux ou trois fois et sur une certaine hauteur, dans de la résine mastic tenue en fusion sur la flamme.

Le mastic que nous employons est constitué comme suit :

Térébenthine de Venise	} Parties égales.
Colophane	
Gomme laque	

Ce mastic à l'état de fusion atteint 150° et même plus.

Après la double ou triple immersion dans le mastic, le sac est couvert et protégé au niveau de son col ainsi que de son extrémité scellée à la flamme, par une calotte robuste, hermétique, imperméable et bien adhérente (e).

Au cours de ces diverses opérations, on a soin de déposer, à chaque phase, les sacs dans des boîtes de Petri stérilisées. Les opérations terminées, pour éviter le desséchement des sacs, on verse dans les boîtes un peu d'eau stérilisée.

Quoique toutes ces phases de la confection des sacs puissent sembler fort compliquées, dans la pratique elles sont assez faciles. Avec un peu d'apprentissage, on réussit à les exécuter avec rapidité et aseptiquement, de telle sorte que les sacs peuvent ensuite être plongés directement dans des tubes de bouillon ou dans des milieux solides liquéfiés (gélatine ou gélose), sans qu'il en résulte de contaminations par des germes accidentels.

L'opération la plus longue et la moins facile est, sans doute, celle de la confection des sacs. Elle exige au moins une vingtaine de jours et une certaine pratique qu'un technicien intelligent acquiert aisément.

2° INFECTION PAR L'ULTRAVIRUS TUBERCULEUX [CHEZ LES COBAYES.

Nous avons commencé nos expériences sur l'ultravirus tuberculeux, par l'introduction, dans le péritoine de cobayes, de sacs de collodion remplis à moitié avec une émulsion de

bacilles tuberculeux, provenant de cultures jeunes (de six jours) sur pomme de terre glycinée et émulsionnée dans du liquide de Sauton.

L'emploi des sacs de collodion pour mettre en évidence le virus tuberculeux filtrable, a été aussi adopté par Manfredi et Perrino (1), qui en ont fait mention dans une note préliminaire au Congrès national antituberculeux de Palerme (octobre 1929). Ultérieurement ces auteurs ont confirmé et mieux précisé leurs recherches dans une deuxième note publiée en janvier 1931 (2).

Ils ont d'abord cultivé les bacilles tuberculeux dans du bouillon glyciné additionné de saponine à 1 p. 100, et ils ont constaté que les filtrats de ces cultures déterminaient chez les cobayes une tuberculose atypique, non évolutive, c'est-à-dire le tableau caractéristique de la tuberculose par ultravirus. Auparavant, les mêmes auteurs n'avaient pu observer ce tableau morbide après l'injection de filtrats de cultures tuberculeuses développées dans le bouillon glyciné simple ou dans d'autres milieux non additionnés de saponine.

Évidemment, l'addition de cette substance, déjà utilisée par les savants japonais R. Arima, K. Aoyama et J. Ohnava (3), pour obtenir l'atténuation des bacilles tuberculeux, facilite la production du virus filtrable ou son passage à travers les pores des bougies de porcelaine.

Mais, non satisfaits de cet important résultat de leurs recherches, Manfredi et Perrino ont introduit, dans le péritoine des cobayes, des sacs de collodion remplis de filtrats de cultures en bouillon additionnés de saponine et ont observé, en général, chez leurs animaux sacrifiés au bout de deux à trois mois, une réaction lympho-ganglionnaire non évolutive, éphémère et aboutissant à la guérison.

En somme, ces auteurs ont constaté que l'ultravirus tuberculeux qui a déjà traversé un filtre de porcelaine est encore capable de traverser un ultrafiltre de collodion et de déterminer chez le cobaye des effets pathogènes manifestes.

(1) In tema di filtrabilità del virus tubercolare. *Rivista Sanitaria Siciliana*, 15 ottobre 1929, p. 1383.

(2) Virus tubercolare filtrabile e tubercolosi atipica sperimentale. *Rivista Sanitaria Siciliana*, 15 febbraio 1931, p. 283.

(3) Ueber ein neues spezifisches Tuberkuloseschutz und heilmittel. *Deutsche mediz. Wochenschrift*, 23 mai 1924, p. 666.

Puisque l'activité et la dose de l'ultravirus étaient sans doute faibles, on peut s'expliquer pourquoi Manfredi et Perrino n'ont pas pu observer chez leurs animaux des issues mortelles et, par conséquent, des lésions spécifiques.

Dans nos expériences, au contraire, les sacs de collodion, au lieu de contenir du filtrat, contenaient le virus. On comprend donc que nos résultats aient été différents.

En effet, dès notre première note, communiquée le 19 juillet 1930 à la Société de Biologie, nous avons décrit les manifestations morbides obtenues par nous à la suite de l'introduction de sacs bacillifères dans le péritoine de cobayes. Actuellement nous n'avons pas beaucoup à y ajouter.

Le nombre des cobayes sacrifiés par nous au cours de ces trois années d'expériences a teint maintenant plusieurs centaines et les protocoles qui s'y réfèrent ont rempli les pages de plusieurs registres. Nous nous bornerons à esquisser, par conséquent, nos récents résultats en tant qu'ils présentent de nouvelles acquisitions sur la biologie de l'ultravirus et sur son action pathogène pour l'organisme animal.

Chez nos cobayes, porteurs de sacs bacillifères dans leur péritoine, on n'a jamais constaté d'infection éphémère ou guérissable, caractérisée par les trois phases bien connues : amaigrissement, rétablissement et survie, ainsi que l'ont observé généralement les auteurs, chez les cobayes inoculés avec des filtrats tuberculeux. Nos cobayes, d'un poids quelconque, succombaient au contraire tous. En effet, parmi les avantages qui ressortent de l'emploi des sacs de collodion contenant du virus tuberculeux vis-à-vis des autres méthodes en usage pour l'étude de son ultravirus, il y a aussi celui de permettre l'emploi de cobayes de toute taille. Même les cobayes de plus de 500 grammes, quand ils ont reçu le sac bacillifère dans le péritoine, succombent tôt ou tard à l'action pathogène de l'ultravirus, présentant régulièrement le tableau de la tuberculose type Calmette-Valtis.

Le sac bacillifère constitue un foyer vivant, des parois duquel sort incessamment l'ultravirus. Les effets en sont comparables à ceux que réaliseraient des réinoculations multiples, successives et rapprochées de filtrats. Ce traitement aboutirait, tôt ou tard, à épuiser toute résistance et à tuer les animaux.

Nous avons employé la souche de tuberculose bovine Vallée, dont la virulence est bien connue dans tous les laboratoires.

Les cobayes témoins de poids moyen (350-450 grammes), inoculés dans le péritoine avec 1/100 de milligramme d'une émulsion légère de ces bacilles développés sur pomme de terre, sont toujours moris en trois ou quatre mois, même après avoir présenté des augmentations de poids, montrant à l'autopsie le tableau classique de la tuberculose généralisée.

Parfois les cobayes qui ont reçu un sac bacillifère dans le péritoine ne semblent d'abord pas en souffrir. Bien plus, il arrive que l'on constate des augmentations de poids. Mais, tôt ou tard, en général au bout d'une vingtaine de jours, les animaux commencent à maigrir plus ou moins lentement, deviennent cachectiques et finissent par succomber dans un laps de temps très variable, de cinquante, quatre-vingts, cent jours. Dans des cas exceptionnels, les animaux peuvent, en maigrissant progressivement, succomber aussi au bout de vingt-cinq jours seulement.

Le tableau habituel que l'on trouve à l'autopsie est, à peu de chose près, celui décrit dans les trois protocoles que nous croyons utile de rapporter ici, avec les résultats des réinoculations en séries faites en partant toujours de cobayes ayant succombé à l'ultravirus, ou sacrifiés à une phase avancée du processus morbide provoqué par lui. La reproduction intégrale de ces protocoles, choisis parmi les plus démonstratifs, représente autant de tableaux qui font ressortir d'une façon évidente l'action pathogène et la biologie de l'ultravirus tuberculeux.

Le premier protocole a pour point de départ un cobaye mort après vingt-trois jours seulement et présentant à l'autopsie un tableau sans caractères nets, avec recherches bacilloscopiques négatives.

Le deuxième commence avec un cobaye mort après cinquante-sept jours, c'est-à-dire après la période de temps la plus habituelle et aussi la plus propice pour la recherche. Cette période permet, en effet, d'observer le tableau anatomique le plus grave et, en conséquence, le plus caractéristique de l'infection par l'ultravirus, c'est-à-dire la tuberculose dite du type Calmette-Valtis, avec constatation certaine et parfois abondante de bacilles acido-résistants.

Le troisième concerne un autre groupe d'expériences, effectuées à partir d'un cobaye mort après cent quatorze jours. Il s'agit d'un cas des moins fréquents, mais, à certains égards, très intéressant.

Les trois protocoles sont accompagnés du compte rendu abrégé des diverses expériences qui représentent comme la filiation des premières, dans le but de démontrer l'évolution et le comportement de l'ultravirus au cours ces passages successifs à travers l'organisme animal.

Protocole I.

Cobaye n° 120, de 540 grammes, reçoit, le 29 avril 1930, dans le péritoine, un sac de collodion contenant une émulsion de bacilles tuberculeux. L'animal maigrit rapidement. Le 22 mai, c'est-à-dire vingt-trois jours après, il meurt avec un poids de 370 grammes.

Ganglions inguinaux normaux. Réaction péritonéale intense; péritoine un peu épaissi. Le sac, enveloppé complètement d'un mince exsudat fibrineux déjà organisé, adhère fortement aux anses intestinales. Il est intact et plein de liquide transparent. Ganglions mésentériques normaux. Les ganglions rétro-vésicaux sont à peine visibles. Rate et foie d'aspect normal. Poumons quelque peu congestionnés. Les ganglions trachéo-bronchiques se montrent un peu volumineux. En résumé, abstraction faite du processus inflammatoire péritonéal, dû à l'action mécanique du sac, ce cobaye ne présente aucune altération anatomique qui puisse faire soupçonner un processus tuberculeux en activité.

Une longue recherche de bacilles acido-résistants dans les divers organes, surtout dans les ganglions lymphatiques, est restée négative.

PASSAGES EN SÉRIE DE L'ULTRAVIRUS.

Malgré ce tableau si insignifiant, on broya avec du sable stérile les divers organes et le tissu conjonctif qui enveloppait le sac. On inocula l'émulsion le même jour (22 mai) dans le péritoine du cobaye 145 et dans l'aine des cobayes 144 et 146.

Deuxième passage de l'ultravirus. Réinoculation en partant du cobaye 120, mort d'infection par ultravirus, effectuée le 22 mai 1930.

Le cobaye 145 (femelle) de 490 grammes, aussitôt après l'injection dans le péritoine, commence à augmenter progressivement de poids jusqu'à atteindre, au bout de trente-six jours, 750 grammes. Elle est gravide. Le 21 juin, elle met bas; depuis, elle commence à maigrir rapidement et meurt cinq jours plus tard, c'est-à-dire cinquante-six jours après l'injection virulente. Les nouveaux-nés furent malheureusement perdus. A l'autopsie, on trouva les ganglions grossis et caséifiés; épanchement séro-sanguinolent dans le péritoine; rate grossie, friable, avec réaction folliculaire intense et nombreuses adhérences avec les organes voisins; urine légèrement albumineuse; ganglions rétro-vésicaux grossis; liqui le séro-sanguinolent abondant dans la plèvre et le péricarde. Absence de tubercules. Présence de rares bacilles acido-résistants dans le ganglion inguinal gauche.

Diagnostic. — Tuberculose type Calmette-Valtis.

Cultures sur milieux habituels et à l'œuf négatives. La rate et les ganglions inguinaux et rétro-vésicaux de ce cobaye ont été broyés avec du sable stérile et inoculés le 18 juillet 1930, dans le péritoine du cobaye 238, de 290 grammes et dans l'aine du cobaye 239, de 280 grammes.

Troisième passage, effectué le 18 juillet 1930.

Le cobaye n° 238 meurt quatre-vingt-trois jours après l'injection virulente, pesant 200 grammes et présentant le tableau anatomique de la tuberculose classique (tubercules disséminés et caséifiés), avec de nombreux bacilles acido-résistants dans la rate, le foie et les ganglions trachéo-bronchiques, inguinaux et axillaires.

Le cobaye n° 239 succombe au bout de soixante-quatorze jours, pesant 240 grammes et présentant le tableau anatomique d'une tuberculose généralisée typique, avec des tubercules dans les poumons et un abcès au niveau de l'aine, c'est-à-dire au niveau de l'injection. Le pus de cet abcès est farci de bacilles tuberculeux. Nombre de bacilles acido-résistants se trouvent dans tous les ganglions, dans la rate, le foie et les poumons.

Deuxième passage, effectué le 22 mai 1930, en partant du cobaye 120.

Le cobaye femelle 144, de 470 grammes, mentionné plus haut, commença, après l'injection dans l'aine de l'émulsion d'organes provenant du cobaye 120, à augmenter progressivement de poids jusqu'à atteindre 700 grammes. Elle met bas trente-sept jours après et ne pèse plus que 515 grammes. Au bout de quatre mois son poids a augmenté de nouveau, jusqu'à 660 grammes. Mais le 22 septembre, c'est-à-dire quatre mois après, elle commence de nouveau à maigrir lentement et meurt le 21 octobre, soit cinq mois après l'injection virulente. Elle pesait alors 360 grammes.

Autopsie : Réaction générale ganglionnaire, avec ganglions trachéo-bronchiques partiellement caséifiés; péritonite plastique avec sérosité sanguine dans le péritoine; rate grossie avec intense réaction folliculaire; entérite; urine albumineuse; absence de tubercules. Présence de très rares bacilles acido-résistants dans les seuls ganglions inguinaux.

Cultures négatives.

En résumé : légère réaction ganglionnaire et splénique sans formation de tubercules et avec présence de très rares bacilles acido-résistants; tuberculose type Calmette-Valtis. On broya avec du sable des fragments de rate, foie, reins, poumons et ganglions lymphatiques et, après avoir centrifugé, on injecta l'émulsion en partie dans l'aine du cobaye 282 et en partie dans le péritoine du cobaye 283.

Troisième passage, effectué le 21 octobre 1930, en partant du cobaye précédent, n° 144.

Le cobaye 282, de 280 grammes, augmente progressivement de poids. A la fin d'août 1931, c'est-à-dire environ dix mois après, il pèse 875 grammes et on peut dire qu'il a survécu.

Il en est de même du cobaye 283, de 240 grammes, qui augmente progressivement de poids. A la fin d'août 1931, il pesait 530 grammes.

Deuxième passage, effectué le 22 mai 1930, en partant des organes du premier cobaye n° 120, mentionné plus haut et tué par l'ultravirus : cobaye 146 de 480 grammes.

Ce cobaye 146, comme le précédent 144, inoculé dans l'aine avec l'émulsion des organes du cobaye 120, augmente progressivement de poids pendant deux mois environ, atteignant 675 grammes. Mais aussitôt après, il commence à maigrir et le 23 août, c'est-à-dire trois mois après l'injection, son

poids est revenu au chiffre initial : 480 grammes. Il succombe le 9 octobre, soit cent quarante et un jours après l'injection virulente, pesant 260 grammes.

A l'autopsie, on trouve les ganglions inguinaux, rétro-vésicaux et trachéo-bronchiques grossis et partiellement caséifiés. Le péritoine est épaissi et renferme de la sérosité sanguine; intestin hyperémié, rate grossie avec réaction folliculaire intense, sans tubercules, mais présentant plusieurs adhérences avec les organes voisins; urine albumineuse. C'est à peu près le même tableau que pour le cobaye 145. Rares bacilles acido-résistants dans les ganglions inguinaux et trachéo-bronchiques. On broie les organes et on les inocule dans l'aine du cobaye 241.

Troisième passage, effectué le 9 octobre 1930.

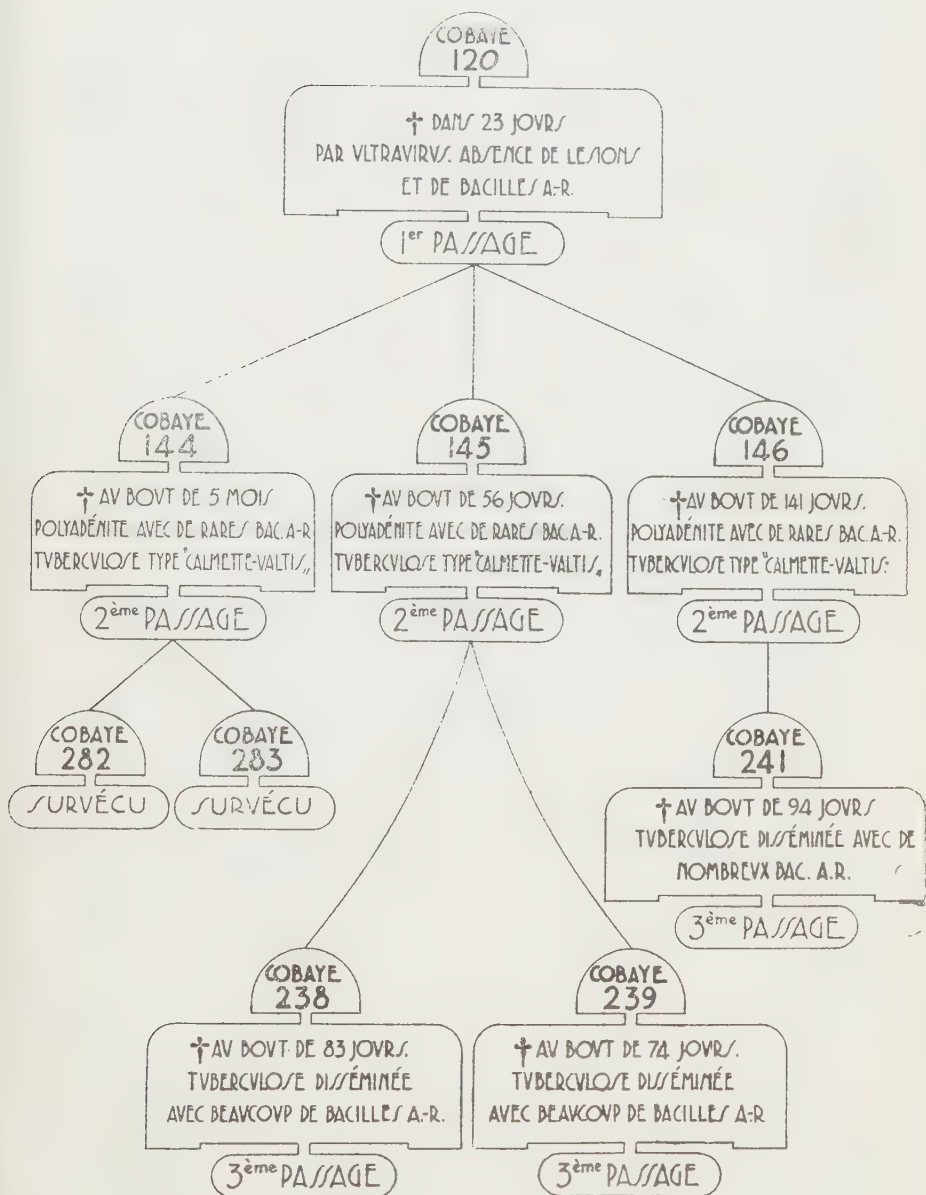
Le cobaye 241 meurt quatre-vingt-quatorze jours après l'injection virulente: poids : 225 grammes; tableau de la tuberculose généralisée. Nombreux bacilles acido-résistants dans tous les organes.

Le tableau ci-annexé résume et expose d'une manière schématique, mais plus claire, la succession des diverses expériences décrite dans ce protocole I, dont on peut tirer les conclusions suivantes :

1° L'ultravirus tuberculeux peut traverser les parois d'un ultrafiltre de collodion introduit dans le péritoine d'un cobaye et tuer l'animal dans un laps de temps relativement court, sans qu'à l'autopsie on rencontre des altérations anatomiques visibles et sans qu'il soit possible de constater, dans les organes, la présence de bacilles ou de granulations acido-résistants ;

2° Mais la réinoculation (deuxième passage) des organes provenant d'un cobaye tué de la sorte par l'ultravirus, bien que conservant encore son aspect normal et se montrant négatif à la bacilloscopie, peut déterminer la mort des cobayes après un laps de temps variable, de cinquante-six jours à cinq mois, après avoir produit chez ces animaux des lésions spécifiques dans les organes lymphatiques, avec présence de bacilles acido-résistants, mais sans tubercules (tuberculose du type Calmette-Valtis) ;

3° Les réinoculations d'organes manifestement altérés par le virus tuberculeux et contenant, quoique en petite quantité, des bacilles acido-résistants, peuvent, après un troisième passage, rester dans quelques cas sans effet, mais elles peuvent aussi déterminer la mort par tuberculose disséminée. Dans ce cas, l'ultravirus montre qu'il a recouvré son pouvoir tuberculigène caractéristique, accompagné de l'apparition de bacilles acido-résistants.



SCHEMA INDIQUANT LA SUCCESSION ET L'ISSUE DES
EXPÉRIENCES DÉCRITES DANS LE PROTOCOLE PREMIER.

Protocole II.

Cobaye n° 120, de 610 grammes, reçoit dans le péritoine, le 7 mai 1930, un sac de collodion contenant des bacilles tuberculeux. Il commence tout de suite à diminuer de poids, et comme, au bout de cinquante-sept jours, il pèse 450 grammes, on le sacrifie (3 juillet) (1).

Péritonite plastique très intense. Péritoine revêtu d'une couenne épaisse et résistante qui enveloppe et emprisonne, comme dans un étui, tout le paquet intestinal. Cette couenne est constituée par du tissu conjonctif en voie d'organisation. Au niveau du côté gauche de l'abdomen, il y a une grosse plaque de tissu de néoformation, très résistant, d'aspect fibreux, analogue à la couenne péritonéale. Dans quelques points, les anses intestinales adhèrent à la couenne. Abondante sérosité sanguinolente dans le péritoine. Epiploon fort épaissi. Rate hypertrophiée, très friable, adhérente à l'estomac et aux anses intestinales, mais sans tubercules. Foie pâle et sans tubercules. Rein d'aspect normal, mais urine albumineuse. Cavité pleurale contenant du liquide séro-hémorragique. Remarquable gonflement des ganglions de laine et des trachéo-bronchiques, mais sans caséification. Le sac de collodion est intact et complètement libre parmi les anses intestinales; il est enveloppé, comme dans un doigt de gant, d'une mince membrane conjonctive, compacte et résistante, de couleur blanchâtre. Son contenu est limpide, les bacilles tuberculeux y sont comme agglutinés et groupés en petits amas.

Les frottis des ganglions inguinaux, trachéo-bronchiques et épiploïques montrent des bacilles faiblement acido-résistants, isolés ou réunis en petits amas, d'aspect généralement granuleux. On rencontre quelques bacilles faiblement acido-résistants, même dans l'enveloppe conjonctive qui revêt le sac.

Cultures, sur les milieux ordinaires et à l'œuf, négatives.

En résumé, tableau caractéristique d'une tuberculeuse ganglionnaire atypique par virus filtrable, type Calmette-Valtis, avec très intense réaction inflammatoire péritonéale et présence de bacilles acido-résistants.

a) PASSAGE DU SAC BACILLIFÈRE DE PÉRITOINE A PÉRITOINE.

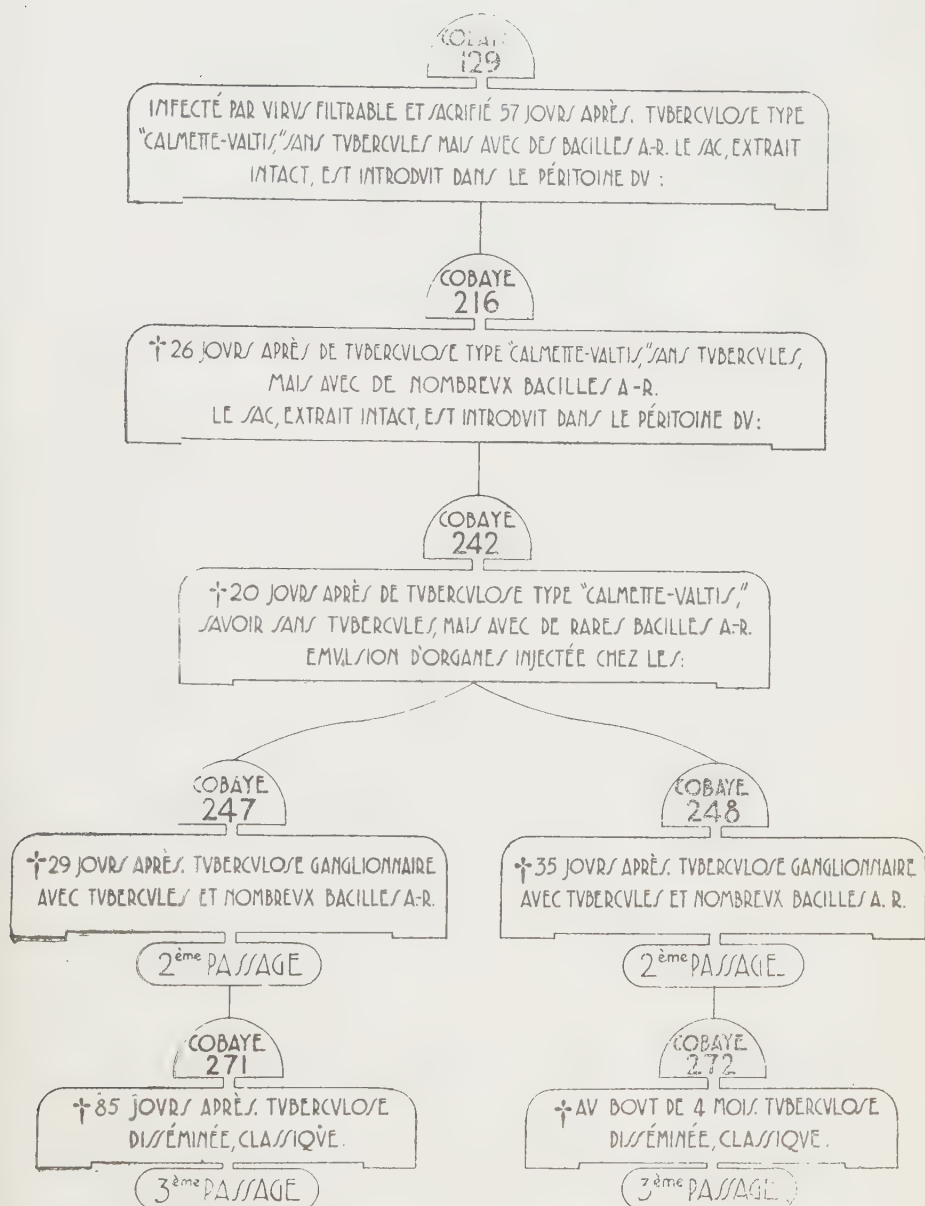
Deuxième passage du sac de collodion.

Pour vérifier si, après avoir séjourné pendant deux mois environ dans le péritoine du cobaye 129, le sac contenant les bacilles tuberculeux était apte à laisser passer encore de l'ultravirus, nous l'avons lavé pendant deux jours dans de l'eau distillée stérilisée, puis dans l'alcool à 72° et ensuite nous l'avons introduit, le 5 juillet 1930, dans le péritoine du cobaye 216, de 490 grammes.

Ce cobaye commença tout de suite à diminuer de poids; au bout de vingt-deux jours, on percevait à la palpation ses ganglions inguinaux et au bout de vingt-six jours il succomba, pesant 75 grammes.

Légère réaction des ganglions inguinaux, surtout à gauche, mais sans caséification. Liquide sanguinolent dans le péritoine. Plaque couenneuse

(1) Dans quelques cas plus intéressants, il est préférable de sacrifier, à un certain moment, l'animal plutôt que de le laisser mourir. L'expérience nous a démontré que quand les cobayes infectés par l'ultravirus succombent dans un état d'amaigrissement avancé ou cachectiques, ils se montrent à l'autopsie envahis fréquemment par des infections secondaires polymicrobiennes. Ces infections, favorisées peut-être par l'intensité du processus inflammatoire péritonéal, gênent beaucoup les recherches microscopiques et bactériologiques et peuvent aussi modifier le tableau anatomique.



SCHEMA INDIQUANT LA SUCCESSION ET L'ISSUE DES
EXPÉRIENCES DÉCRITES DANS LE PROTOCOLE DÉPOSÉ.

épaisse, analogue à celle du cobaye 129, qui revêt à l'intérieur la paroi abdominale et rend difficile l'ouverture de la cavité péritonéale. Rate fort grossie et friable, avec des hypertrophies folliculaires, mais sans tubercules. Urine fortement albumineuse. Poumons congestionnés, mais sans tubercules. Ganglions trachéo-bronchiques volumineux, comme des pois chiches, en partie caséifiés. Le sac est intact, emprisonné dans les anses intestinales. Bacilles acido-résistants isolés ou réunis en petits amas dans les ganglions inguinaux, qui ne sont pas caséifiés. Très nombreux bacilles acido-résistants dans les ganglions trachéo-bronchiques, tandis qu'on en rencontre de très rares dans la pulpe splénique.

Cultures sur milieux ordinaires et à l'œuf, négatives.

En résumé, tableau semblable à celui du précédent cobaye, n° 129.

b) PASSAGE EN SÉRIE DE L'ULTRAVIRUS.

Troisième passage du sac de collodion.

Après l'avoir nettoyé soigneusement dans l'eau, puis dans l'alcool, le même sac a été introduit dans le péritoine du cobaye 242, de 500 grammes, le 1^{er} août 1930.

Cet animal commence, lui aussi, à diminuer de poids et meurt au bout de vingt jours, pesant 440 grammes.

Son tableau anatomique est semblable à celui du cobaye précédent; mais la péritonite plastique est, ici, à peine marquée. Légère réaction ganglionnaire, liquide sanguinolent dans le péritoine; rate grossie et friable, qui adhère fortement aux organes voisins; foie et reins d'aspect normal; pas de tubercules; ganglions trachéo-bronchiques grossis et durs. Bacilles acido-résistants très rares dans les ganglions inguinaux et trachéo-bronchiques, rares dans la rate. Sac intact. Cultures sur milieux ordinaires et à l'œuf, négatives.

En résumé: tableau habituel de la tuberculose ganglionnaire par virus filtrable, type Calmette-Valtis.

c) COMMENT L'ULTRAVIRUS ACQUIERT DES PROPRIÉTÉS TUBERCULIGÈNES APRÈS AVOIR PASSÉ À TRAVERS L'ORGANISME DE TROIS ANIMAUX.

Ainsi, nous avons constaté que, lors des passages successifs et ininterrompus d'un même sac de péritoine à péritoine, l'ultravirus qui y est contenu continue à filtrer à travers les parois avec une activité renforcée, mais il conserve inaltéré son caractère spécifique, c'est-à-dire le pouvoir d'exercer seulement une action phlogogène et toxique, non tuberculigène.

Après cela, on a cru opportun de continuer les réinoculations en série à partir des organes du cobaye 242, mort le troisième et dernier, des effets de l'ultravirus.

Réinoculation (deuxième passage) effectuée le 20 août 1930, en partant du cobaye 242.

On injecte dans le péritoine du cobaye 247 et dans l'aine du cobaye 248, l'émulsion obtenue en broyant avec du sable stérile les organes prélevés à l'autopsie du cobaye 242.

Le cobaye 247, de 260 grammes, succombe au bout de vingt-neuf jours, après avoir diminué de poids jusqu'à 140 grammes. À l'autopsie, on trouve les ganglions inguinaux un peu grossis; péritonite plastique accentuée; liquide sanguinolent dans le péritoine, épaississement du mésentère, nombreuses adhérences des organes abdominaux; entérite; rate grossie et friable, avec tubercules d'apparence miliaire; foie et reins normaux, urine albumineuse, épiploon épaissi, avec tubercules caséifiés; ganglions trachéo-bronchiques grossis et en partie caséifiés; poumons d'aspect normal. Nom-

beaucoup de bacilles acido-résistants dans la rate et le foie, plus rares dans les ganglions. Cultures sur les milieux ordinaires et à l'œuf, négatives.

Diagnostic : tuberculose ganglionnaire et apparition de tubercules dans la rate.

Le cobaye 248, de 340 grammes, maigrît, lui aussi, rapidement et meurt au bout de trente-cinq jours, pesant 210 grammes.

Autopsie : tableau tout à fait analogue à celui du cobaye 247, mais il y a en outre des tubercules d'apparence miliaire même dans le foie. Ganglions inguinaux, trachéo-bronchiques et rétro-vésicaux grossis et caséifiés. Poumons avec hépatisation mais sans tubercules. Nombreux bacilles acido-résistants dans la rate, le foie et les ganglions lymphatiques. Cultures négatives.

Diagnostic : tuberculose ganglionnaire et entérite avec apparition de tubercules dans la rate et dans le foie.

Troisième passage de l'ultravirus, effectué le 19 septembre 1930, en partant du cobaye précédant 247.

On injecte dans le péritoine du cobaye 271, de 340 grammes, une émulsion obtenue en broyant avec du sable stérile les organes du cobaye 247. On remarque la diminution de poids, immédiate et progressive, mais à un moment donné l'animal recouvre son poids initial et, à de petites oscillations près, il le conserve jusqu'à peu de jours avant la mort. Il succombe quatre-vingt-cinq jours après l'injection virulente.

Le tableau anatomique indique une tuberculose généralisée avec tubercules dans les poumons. Nombreux bacilles acido-résistants dans tous les organes. Cultures négatives.

Troisième passage de l'ultravirus, effectué en partant du cobaye 248, le 25 septembre 1930

Une émulsion d'organes du cobaye 248 est injectée au cobaye 272. Le poids de cet animal se maintient presque stationnaire pendant une douzaine de jours, puis il commence à augmenter. Au bout d'un mois il pèse 300 grammes; après deux mois, 450 grammes et après soixante-cinq jours, 510 grammes. A partir du 18 décembre, le poids commence à diminuer légèrement, jusqu'à 380 grammes. Le 24 janvier, il est un peu plus élevé : 460 grammes. Le 3 février, c'est-à-dire après quatre mois environ, l'animal meurt, pesant 340 grammes.

Autopsie : tuberculose généralisée avec nombreux bacilles acido-résistants dans tous les organes.

Des expériences résumées dans ce deuxième protocole, et représentées graphiquement dans le schéma n° 2, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° L'ultravirus provenant d'une culture tuberculeuse enfermée dans un sac de collodion ne s'épuise pas si le sac passe de péritoine à péritoine plusieurs fois. Bien plus, il semble que l'ultravirus augmente graduellement d'activité et de virulence, car il tue les cobayes dans un laps de temps de plus en plus court. Malgré cela, il garde son lymphotropisme typique et la propriété de déterminer seulement des lésions inflammatoires et ganglionnaires plus ou moins accentuées, mais sans production de tubercules.

2° A partir de l'ultravirus, la première formation de tubercules ne se rencontre, chez les cobayes inoculés, qu'après qu'il a exercé son action pathogène dans l'organisme de un ou deux cobayes. On doit donc conclure que l'ultravirus tuberculeux doit d'abord évoluer ou accomplir une sorte de cycle de maturation dans les tissus vivants de 1 ou 2 animaux sensibles.

Protocole III.

Cobaye n° 121, de 520 grammes (femelle). Reçoit, le 29 avril 1930, dans le péritoine, un sac de collodion contenant des bacilles tuberculeux. Après quelques variations pondérales pendant une dizaine de jours, elle commence à augmenter de poids. Après un mois et demi, poids 650 grammes. Deux mois après elle met bas et son poids tombe à 540 grammes. Après trois autres mois 580 grammes, mais depuis elle commence à maigrir et succombe le 20 août, c'est-à-dire cent quatorze jours après l'introduction du sac de collodion; poids 535 grammes.

Autopsie : ganglions inguinaux volumineux et partiellement caséifiés; péritonite plastique fortement développée avec beaucoup de sérosité sanguine dans le péritoine; anses intestinales en grande partie soudées entre elles par des adhérences; rate énorme (environ huit fois les dimensions normales!), très friable, adhérent fortement aux organes voisins, mais sans tubercules; foie et reins d'aspect normal; urine fortement albumineuse; poumon droit hépatisé, mais sans tubercules; ganglions trachéo-bronchiques gros et caséifiés.

Rares bacilles acido-résistants dans tous les ganglions, non décelables dans les autres organes. Cultures négatives. Polyadénite par virus filtrable, avec présence de bacilles acido-résistants. Tuberculose type Calmette-Vallis,

PASSAGE EN SÉRIE DE L'ULTRAVIRUS.

Reinoculation (deuxième passage) de l'ultravirus, effectuée le 20 août 1930, en partant du cobaye 121, mort d'infection par ultravirus.

On injecte dans l'aîne du cobaye 251, de 300 grammes, et dans le péritoine du cobaye 252, de 230 grammes, une émulsion d'organes du cobaye 121, préparée comme dans les précédentes expériences. Le cobaye 251, après quelques variations de poids, meurt quatre-vingt-dix jours après l'infection virulente. Il pesait alors 270 grammes.

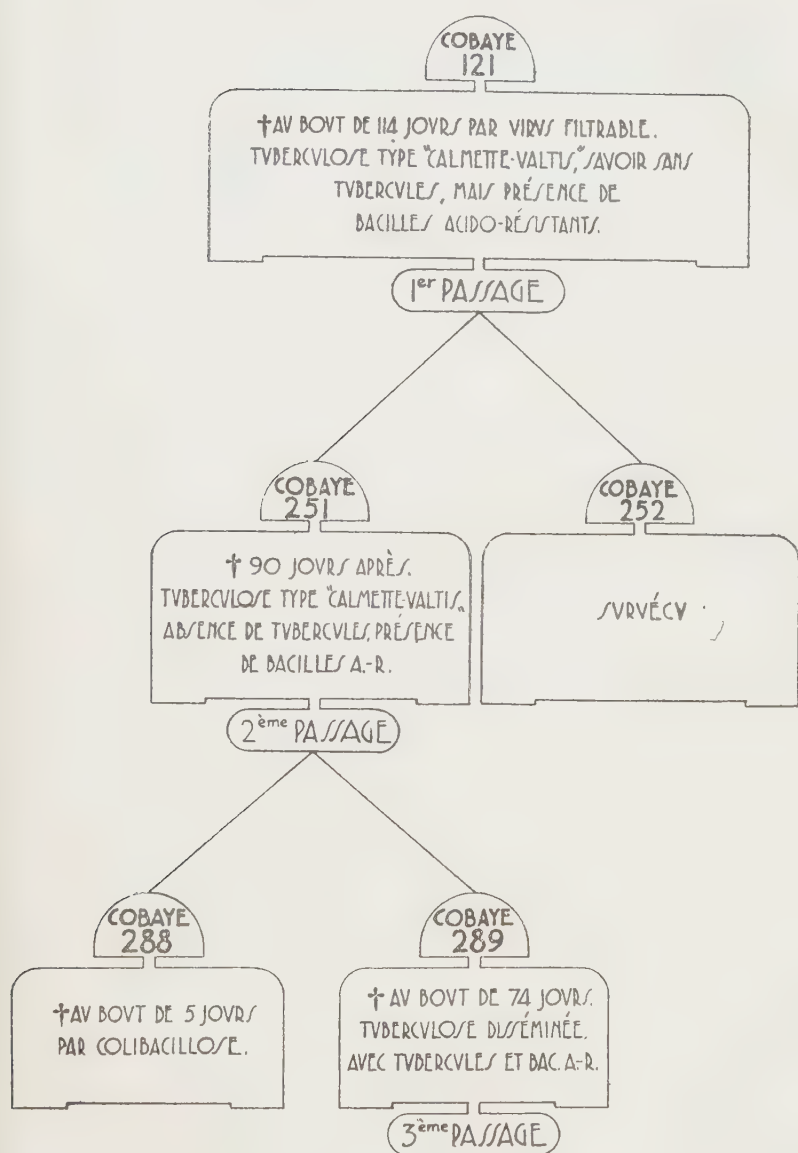
Autopsie : polyadénite marquée, ganglions inguinaux qui ont les dimensions d'un petit haricot et sont en partie caséifiés; ganglions axillaires gros comme des grains de millet; péritoine épaissi et vascularisé, avec sérosité sanguine; entérite; rate fortement grossie, avec hypertrophie folliculaire intense; foie congestionné; reins d'aspect normal, urine albumineuse; poumons congestionnés, ganglions trachéo-bronchiques gros comme des pois et caséifiés. Absence de tubercules. Quelques rares bacilles acido-résistants dans tous les ganglions et la rate. Cultures négatives.

Diagnostic : Tuberculose ganglionnaire atypique.

Le cobaye 252, après une courte période d'amaigrissement et d'oscillations pondérales, augmente progressivement son poids. Le 28 avril 1931, plus d'un an après l'injection virulente, il pèse 750 grammes et se porte très bien.

Troisième passage, effectué le 17 novembre 1930, en partant du cobaye 251.

Dans l'aîne du cobaye 288 et dans le péritoine du cobaye 289, on injecte,



SCHEMA INDIQUANT LA SUCCESSION ET L'ISSE DES
EXPERIENCES DECRITES DANS LE PROTOCOLE TROISIEME.

comme dans les précédentes expériences, une émulsion obtenue de divers organes du cobaye 251.

Le cobaye 288 meurt cinq jours après, de colibacillose.

Le cobaye 289, après avoir présenté quelques variations pondérales, meurt le 31 janvier, c'est-à-dire soixante-quatorze jours après l'inoculation virulente.

A l'autopsie on trouve une tuberculose disséminée dans tous les organes, avec tubercules même dans les poumons et un gros abcès dans l'épaisseur de la paroi abdominale. Les ganglions trachéo-bronchiques ont les dimensions d'un pois chiche. Bacilles acido-résistants dans l'abcès, dans la rate et dans les ganglions lymphatiques.

Cultures sur milieux à l'œuf : au bout de un mois, développement de colonies tuberculeuses typiques sur deux tubes de Petroff ensemencés avec le contenu d'un ganglion rétro-vésical et avec le pus de l'abcès abdominal.

Des résultats de cette dernière série d'expériences, graphiquement représentées dans le schéma n° 3, on peut tirer les conclusions suivantes :

1. La durée du processus morbide déterminé chez le cobaye par l'ultravirus tuberculeux, n'exerce aucune influence sur la physionomie des altérations pathologiques et, par conséquent, sur le tableau anatomique que l'on observe à l'autopsie. En d'autres termes, l'ultravirus tuberculeux n'est pas capable de produire des tubercules, même après une évolution de cent quatorze jours dans l'organisme d'un animal sensible, comme le cobaye. Dans ces expériences aussi, nous avons vu que l'ultravirus acquiert le pouvoir tuberculigène seulement après avoir subi trois passages dans l'organisme du cobaye.

2. De cette série d'expériences, ainsi que de celles décrites dans le protocole I, il ressort que des doses assez fortes d'émulsions d'organes contenant de l'ultravirus, alors même qu'elles renferment un certain nombre de jeunes bacilles tuberculeux, peuvent être bien tolérées par des cobayes; ceux-ci résistent et survivent. Cela démontre que l'ultravirus, aussi bien que les formes initiales ou jeunes des bacilles tuberculeux qui en proviennent, quand ils ne sont pas introduits à des doses massives ou d'une façon continue dans l'organisme du cobaye, peuvent se révéler plus ou moins atténués dans leur action pathogène.

Cette notion, comme nous le verrons aussi dans des expériences ultérieures, explique en partie les insuccès signalés par divers auteurs qui se sont engagés dans ce genre de recherches.

III. — Action pathogène de l'ultravirus tuberculeux; son évolution dans l'organisme animal et sa culture.

Aux conclusions qui se dégagent des résultats des trois séries d'expériences que nous avons décrites, choisies parmi les plus démonstratives, nous désirons ajouter quelques autres observations faites pendant nos recherches. Elles concernent le comportement de l'ultravirus tuberculeux dans l'organisme animal et ses propriétés pathogènes.

1° PÉRITONITE PLASTIQUE ET RÉACTIONS PÉRITONÉALES SPÉCIFIQUES.

A l'autopsie des cobayes qui ont succombé à l'action de l'ultravirus qui a traversé les sacs de collodion, on rencontre toujours un processus péritonéal fort caractéristique. Comme on l'a déjà dit dans ces cas le péritoine, qui est demeuré longtemps en contact avec les parois du sac, réagit à l'action directe de l'ultravirus par la formation d'un exsudat qui, peu à peu, s'organise et acquiert l'aspect d'un enduit épais ou d'une couenne très résistante, plus ou moins vascularisée. Il y a donc production d'une péritonite plastique.

L'examen microscopique de ce tissu conjonctif de nouvelle formation (fixation à la formaline; coloration de van Gieson et hématoxyline-éosine) révèle les détails histologiques suivants :

A faible grossissement les préparations se montrent constituées par un tissu homogène, compact, avec les caractères du tissu conjonctif jeune. Les mailles du réseau, constituées par de petites fibres conjonctives, renferment nombre de fibroblastes que l'on reconnaît à leur noyau allongé. Dans tous les champs du microscope on voit de nombreux vaisseaux coupés, de petit calibre, mais avec leurs parois plus épaisses que celles des capillaires.

L'aspect homogène du tissu est, par endroits, différencié par la présence de groupes de cellules à noyau un peu volumineux et placées de manière à former des nœuds de grandeur variable, presque ronds ou ovalaires. Ces nœuds sont formés par des cellules diverses. Près de nombreux lymphocytes on remarque des fibroblastes qui, avec leurs ramifications protoplasmiques,

forment le tissu de soutien des nœuds. On y observe aussi des cellules avec noyau vésiculaire riche en chromatine ; leur protoplasme, coloré par l'éosine, acquiert souvent une forme quadrangulaire ou allongée, irrégulière. Ces éléments se rangent en certains endroits en palissade. Quelques-unes de ces cellules, groupées entre elles, forment une sorte de syncytium avec beaucoup de noyaux ; elles rappellent les cellules épithélioïdes. Ça et là on rencontre aussi des cellules géantes de faibles dimensions, avec de nombreux noyaux qui occupent presque complètement le protoplasma ou qui sont situés périphériquement, suivant la manière caractéristique bien connue. Mais on ne rencontre aucun tubercule.

En résumé, l'ultravirus qui agit au contact immédiat de la séreuse péritonéale détermine la formation d'un tissu réactionnel conjonctif compact et riche en vaisseaux, contenant des cellules géantes et des cellules épithélioïdes, sans aucun signe de dégénérescence caséuse. Au contraire, ces formations présentent des traces évidentes de régression et de transformation fibreuse, ce qui démontre la prévalence des fonctions de défense des cellules mobilisées par l'organisme infecté contre l'action de l'ultravirus.

Mais le péritoine, comme organe lymphatique, réagit à l'ultravirus même quand on inocule sous la peau de la face interne de la cuisse du cobaye, par exemple, du matériel de deuxième passage à bacilloscopie négative. En effet, dans ces cas sans tubercules, on trouve constamment aussi, à l'autopsie, le signe caractéristique, et, dirons-nous, presque spécifique, de la réaction péritonéale, représentée par une quantité plus ou moins abondante de sérosité sanguinolente.

Voilà donc une autre preuve du lymphotropisme très marqué de l'ultravirus tuberculeux.

2° LES HYPERPLASIES GANGLIONNAIRES.

On sait que les hyperplasies lymphoganglionnaires constituent le caractère anatomique fondamental des infections par l'ultravirus.

Celui-ci manifeste, de même que certaines infections tuberculeuses, paucibacillaires décrites dès 1902 par Manfredi et

Perrino (1), un lymphotropisme très caractérisé qui donne au tableau pathologique déterminé chez les cobayes, une physiologie toute particulière.

Les ganglions lymphatiques de ces animaux se montrent, néanmoins, d'aspect variable. Quelquefois, spécialement lors d'un premier passage (première étape de l'ultravirus), ils peuvent se présenter normaux ou presque normaux, même lorsque le cobaye est mort en pleine cachexie. Dans ces cas, les recherches bacilloscopiques les plus soignées restent négatives.

Mais, habituellement, surtout au deuxième passage de l'ultravirus, les ganglions se montrent plus ou moins gonflés, congestionnés, hémorragiques, avec dégénérescence caséuse et présence de bacilles acido-résistants. Dans quelques cas, leur volume acquiert des dimensions exceptionnelles. Chez un cobaye (n° 251), les ganglions inguinaux avaient l'aspect de petits haricots. Souvent nous avons rencontré les ganglions trachéo-bronchiques caséifiés de la grosseur d'un pois. Une fois, ils se sont montrés transformés en abcès de la grosseur d'un pois chiche.

Le processus caséogène commence habituellement, dans les ganglions, à partir du deuxième passage; mais parfois, spécialement dans les cas où l'infection par l'ultravirus a duré longtemps, dès le premier passage.

Les recherches microscopiques ne révèlent aucune lésion spécifique ni caractéristique. On ne rencontre ni tubercules, ni cellules géantes. Il s'agit de simples hyperplasies, avec des foyers de nécrose ou hémorragiques circonscrits et une légère réaction du tissu réticulo-endothélial.

3° LA RÉACTION ÉPIPLOÏQUE.

L'épiploon, organe lymphatique, réagit, lui aussi, fortement à l'ultravirus.

Dans les cas où le sac bacillifère a été introduit dans le péritoine, l'ultravirus agit sur l'épiploon même d'une façon directe et, par conséquent, d'une manière plus intense, car il empi-

(1) Experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Rolle der Lymphdrüsen als Schutzmittel gegen Tuberkulose. *Centralbl. für Bakter.*, vol. XXXII. 1902, p. 295.†

sonne souvent le sac ou lui adhère plus ou moins largement. Il se montre dans ces cas toujours plus ou moins altéré.

Habituellement, il se montre épaissi, en proie à un processus inflammatoire intense ; souvent il est recroquevillé et tellement déformé qu'il constitue comme un gros bloc de tissu conjonctif, d'aspect couenneux, parfois adhérent à la paroi abdominale au niveau de la cicatrice et assez souvent parsemé de petits abcès pleins de pus caséeux.

Parfois, même au deuxième passage de l'ultravirus, nous avons trouvé l'épiploon transformé en une poche volumineuse purulente.

Il n'est pas nécessaire de mentionner les altérations que l'on peut rencontrer dans d'autres organes : rate, foie, rein, poumons, etc., car elles ont été décrites par d'autres auteurs (Guardabassi, Soli, Robles, etc.). Mais elles ne présentent rien de particulier.

4^e APPARITION DU GRANULOME TUBERCULEUX.

En effectuant le passage de péritoine à péritoine, des sacs bacillifères, l'ultravirus augmente de virulence et arrive même, comme nous l'avons indiqué plus haut (protocole II), à tuer le cobaye en vingt jours.

Malgré cela, l'ultravirus est incapable d'arriver jusqu'à former des nodules tuberculeux. Son lymphotropisme marqué se manifeste spécialement par un processus inflammatoire des organes lymphatiques : ganglions, épiploon, séreuses.

Mais l'action phlogogène de l'ultravirus doit s'exercer aussi sur d'autres organes qui, à l'autopsie, se montrent apparemment normaux comme, par exemple, les reins. Le fait que, chez tous les cobayes morts par l'effet de l'ultravirus, on trouve l'urine plus ou moins riche en albumine, porte à penser que les reins aussi ont été endommagés dans leurs éléments fonctionnels.

Les tubercules commencent à faire leur apparition en petit nombre dès le deuxième passage, surtout dans la rate, plus rarement dans le foie. Au troisième passage, on en rencontre toujours en grande quantité. Au quatrième passage, la rate en est farcie ; et ils font aussi leur apparition dans les poumons.

organes dans lesquels ils se trouvent plus rarement et en dernier lieu.

Dans le foie, les tubercules apparaissent avec une certaine irrégularité. Habituellement cet organe, chez le cobaye, se montre d'aspect normal, non seulement au premier passage, mais aussi au deuxième, alors que la rate est presque toujours plus ou moins farcie de tubercules. Mais, dans certains cas, le foie aussi peut se montrer parsemé de tubercules à partir du deuxième passage.

Dans d'autres cas, même au quatrième passage, le foie se montre seulement congestionné et sans tubercules. Parfois ceux-ci sont très nombreux dans le foie et absents dans la rate.

En résumé, il n'est pas possible d'établir des données précises sur l'apparition des nodules tuberculeux dans les différents organes. Ces nodules indiquent néanmoins une maturation plus ou moins avancée de l'ultravirus dans l'organisme animal.

5° APPARITION ET CULTURE DES BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS.

La recherche de ces bacilles dans les organes, et surtout dans les ganglions lymphatiques des cobayes morts par l'effet de l'ultravirus, est presque toujours difficile, pénible et souvent infructueuse. Tous les auteurs l'ont remarqué. L'école de Calmette dit, sans plus, que l'examen consciencieux d'un frottis ganglionnaire demande parfois une observation de plusieurs heures.

Et c'est parfaitement exact.

Même chez les cobayes qui meurent avec le sac bacillifère dans l'abdomen, c'est-à-dire qui succombent à l'effet continu et massif de l'ultravirus, la recherche de bacilles ou des éléments acido-résistants n'est pas toujours aisée. Parfois cette recherche réussit, mais d'autres fois elle est vaine. Dans quelques cas on trouve de rares bacilles, isolés; dans d'autres cas, on en peut observer de véritables amas. En général, ces bacilles, aussitôt qu'ils se sont développés à partir de l'ultravirus, résistent faiblement à la décoloration par les acides. Il est donc nécessaire de pratiquer la coloration rapidement et avec beaucoup de soins. Les recherches les plus fructueuses sont celles que l'on effectue dans les ganglions lymphatiques, spécialement quand

ils présentent des traces de caséification. Les ganglions les plus riches en bacilles sont les trachéo-bronchiques ou rétrosternaux, qui sont d'ailleurs le plus fréquemment frappés.

Chez les cobayes tués par l'ultravirus, la recherche des bacilles acido-résistants dans la rate est presque toujours négative. Néanmoins, la pulpe splénique de quelques-uns de ces cobayes, même à bacilloscopie négative, injectée dans le péritoine de cobayes neufs, peut déterminer une tuberculose généralisée.

Les bacilles issus de l'ultravirus dans l'organisme du cobaye accusent toujours une virulence un peu atténuée. Tous les auteurs ont observé que l'on trouve beaucoup de difficultés à les cultiver, même sur les milieux les plus favorables. C'est sans doute la conséquence d'un certain affaiblissement de leurs activités biologiques et de leur pouvoir d'adaptation.

Tandis que les bacilles tuberculeux de la souche Vallée, ensemencés sur pomme de terre glycinée et sur milieux à l'œuf, se développent et donnent rapidement de belles cultures en moins d'une semaine, les bacilles dérivés de l'ultravirus, même au deuxième ou troisième passage chez le cobaye, ne se développent pas ou seulement d'une manière exceptionnelle. Dans ce dernier cas ils ne forment de colonies visibles qu'au bout d'un mois ou davantage.

Nous avons supposé que cette longue période de latence qu'exigent les bacilles dérivés de l'ultravirus relevait aussi peut-être d'une éventuelle et lente variation du pH dans les milieux nutritifs par l'effet de leur séjour dans l'étuve, ainsi qu'il a été démontré par l'un de nous à propos de la lyse bactériophagique.

En employant certains milieux (bouillon de viande, bouillon à la gomme adragante à 15 p. 100, gélose à 2 p. 100, gélatine à 15 p. 100, sérum de cheval, liquide ascitique) qui ont une réaction légèrement alcaline, et en les laissant pendant quelques jours à l'étuve, Alessandrini (1) a montré qu'il se produisait des variations dans le pH , lequel se déplaçait dans le sens de l'acidité.

Le dynamisme des complexes colloïdaux, dont la propriété la plus importante est l'instabilité des liens de leurs consti-

(1) *Influenza dei cambiamenti di reazione del mezzo sulla attività del batteriofago*. *Annali d'Igiene*, 1925, p. 1025.

tuants, agit de telle façon que la plus petite cause (température, par exemple) suffit pour mettre en évidence une acidité qui n'avait pas été soupçonnée ou qu'on ne pouvait pas soupçonner, mais suffisante pour ralentir ou empêcher le développement du bactériophage et, par suite, le phénomène de la lyse transmissible en série.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons déterminé par la méthode électrométrique, et en employant toujours la même électrode, le pH de quelques tubes de Petroff, stériles et gardés à l'étuve à 37° , dont ils étaient extraits après des temps divers.

On eut les résultats suivants :

13 mai	$pH = 7,09$
22 mai	$pH = 7,02$
10 juin	$pH = 7,44$

Le milieu de Petroff, employé dans nos recherches, maintient donc dans l'étuve son pH autour du point neutre, quoique avec une légère tendance à l'alcalinité.

Or, on sait que les bacilles tuberculeux sont plutôt acidogènes et acidophiles. Ils se développent, donc, mieux dans les milieux à réaction légèrement acide. Pour bien se développer ils exigent une réaction correspondant à $pH = 6,8$ à $7,2$. Cette réaction initiale se modifie, au commencement du développement, dans le sens de l'alcalinité, puis elle retourne lentement vers la neutralité ou une très légère acidité, comme dans le cas du bacille bovin Vallée.

Dans les milieux alcalins employés couramment dans les laboratoires, le bacille tuberculeux ne peut donc se développer et vivre que quand il a réussi, pendant une certaine période de vie et d'activité latentes, à modifier quelque peu ou à se rendre favorable le milieu dans lequel il est ensemencé. Cela a lieu probablement par un ensemble de phénomènes métaboliques et diastasiques, peut-être aussi par l'effet des diastases oxydantes élaborées par le bacille tuberculeux et par lesquelles les constituants du milieu, spécialement la glycérine, se transforment en acides.

Puisque dans les espèces microbiennes l'atténuation du pouvoir pathogène marche parallèlement avec l'affaiblissement de leurs activités biochimiques, zymotiques, etc., on est

amené à penser que la période de temps plus longue qu'exigent les bacilles fraîchement dérivés de l'ultravirus pour donner des cultures visibles dans un milieu déterminé, est employée par eux à modifier à leur gré la réaction du milieu lui-même.

Cette supposition est rendue plus vraisemblable par ce fait que, comme nous le verrons dans un prochain mémoire, si l'on réussit, dans quelques rares cas, à cultiver les formes primordiales dérivées de l'ultravirus, les colonies, même après plus d'un mois d'étuve, surgissent d'une façon soudaine à la surface du milieu ensemencé, et commencent à se développer assez bien, ce qui est en contraste frappant avec la très longue période d'attente et de vie presque latente. On peut donc considérer cette période comme nécessaire aux bacilles ensemencés pour l'élaboration et la transformation adéquates du milieu sur lequel ils doivent proliférer. C'est pour cela, peut-être, qu'un ensemencement abondant représente un facteur important pour hâter le « départ » de toute culture tuberculeuse.

Résumé et conclusions.

De l'ensemble des observations et des recherches décrites dans ce mémoire, on peut tirer les conclusions suivantes :

1° La substitution des ultrafiltres de collodion aux bougies de porcelaine ou de terre poreuse dans l'étude de l'ultravirus tuberculeux a permis de constater qu'à travers les parois des sacs de collodion contenant des bacilles tuberculeux, et introduits dans le péritoine des cobayes, filtre un ultravirus tuberculeux. Ce dernier tue toujours l'animal dans un temps plus ou moins court. A l'autopsie, on observe d'ordinaire le tableau anatomique que l'on obtient aussi avec les filtrats de cultures et de produits tuberculeux et qui est connu par la dénomination de « tuberculose type Calmette-Valtis », c'est-à-dire : une polyadénite plus ou moins accentuée, avec légère augmentation de volume de la rate, présence d'éléments acido-résistants, mais absence de tubercules. Parfois, on ne réussit à trouver aucun élément acido-résistant et aucune altération anatomique qui puisse relever du virus tuberculeux. Seulement, les passages en série chez d'autres cobayes permettent de

révéler, tôt ou tard, par l'apparition de bacilles acido-résistants et de tubercules, la nature spécifique du processus morbide qui a causé la mort.

2° Si l'on part, en effet, d'émulsions d'organes de cobayes tués par l'ultravirus, même quand on n'a pas réussi à déceler de bacilles acido-résistants, on arrive à reproduire, au moyen de passages successifs chez d'autres cobayes, au deuxième ou, tout au plus, au troisième passage, le tableau classique de la tuberculose expérimentale du cobaye, avec formation de tubercules et présence de grandes quantités de bacilles acido-résistants dans tous les organes.

3° A travers les parois d'un sac de collodion contenant des bacilles tuberculeux et introduit dans la cavité abdominale d'un cobaye, ne filtre que de l'ultravirus. On peut, en effet, introduire le même sac, successivement plusieurs fois, de péritoine à péritoine, mais il reproduit, chez tous les animaux ainsi successivement traités, le même processus morbide mortel par ultravirus. Ces passages de péritoine à péritoine exaltent la virulence du contenu du sac bacillifère, mais l'action pathogène de celui-ci demeure toujours incapable de produire des nodules tuberculeux.

4° La durée de l'infection par l'ultravirus chez le cobaye n'exerce aucune influence sur l'aspect du tableau anatomique de la tuberculose par ultravirus, c'est-à-dire sans tubercules, observé à l'autopsie. Même si l'infection dure depuis longtemps et que la mort du cobaye se vérifie au bout de cent quatorze jours, l'ultravirus se montre encore non tuberculigène.

Cette constatation évidente ôte toute valeur à l'hypothèse que la mort des cobayes, causée par les sacs de collodion bacillifères introduits dans leur cavité péritonéale, puisse être attribuée à des bacilles tuberculeux éventuellement sortis à travers quelques imperfections des sacs. On sait, en effet, que même les infections paucibacillaires, chez les cobayes, déterminent toujours une tuberculose typique, jamais une tuberculose atypique du type Calmette-Vettis.

5° L'ultravirus tuberculeux, ainsi que les éléments bacilliformes initiaux, même acido-résistants, qui en sont dérivés dans l'organisme du cobaye, montrent expérimentalement un pouvoir pathogène atténué. Leur inoculation aux cobayes,

lorsqu'on la pratique à doses non massives et non répétées, peut quelquefois être bien supportée. Les pouvoirs normaux de défense des animaux suffisent parfois à détruire ces éléments primordiaux inoculés.

6° L'ultravirus tuberculeux est doué d'un lymphotropisme accentué. C'est ce qui explique son action spécifique, de préférence sur les cavités séreuses, spécialement sur le péritoine et sur tout le système lymphoglandulaire, où il produit des processus inflammatoires prolifératifs, hyperplasiques et caséogènes, avec présence de cellules géantes, mais sans formations de nodules tuberculeux.

7° Les nodules tuberculeux font d'ordinaire leur première apparition dès le deuxième passage chez le cobaye. D'abord, ils se montrent en petit nombre, dans la rate seulement; au troisième passage, on les observe aussi dans le foie, et au quatrième passage, on peut les rencontrer même dans les poumons qui sont habituellement frappés les derniers. Au cours des passages successifs chez le cobaye, le virus s'exalte et le nombre de nodules tuberculeux augmente dans tous les organes touchés par lui.

8° La culture des bacilles tuberculeux, fraîchement dérivés dans les organes du cobaye, des éléments de l'ultravirus, est difficile, même après quatre passages successifs d'animal à animal et après que des formes granuleuses ou élémentaires ont produit dans les tissus des formes mûres ou bacillaires. Ce n'est qu'exceptionnellement que nous avons obtenu la culture (quatre fois) à partir du deuxième et du troisième passages de l'ultravirus chez le cobaye.

9° Dans ce cas, l'apparition des colonies, même sur les milieux plus favorables, n'est observée qu'au bout d'une très longue période d'incubation ou de latence culturale, ce qui confirme toujours davantage la conception de l'extrême fragilité et de la faible énergie vitale des premiers éléments tuberculeux visibles, engendrés par l'ultravirus. On doit attribuer l'apparition tardive, ou l'absence des premières cultures tuberculeuses dérivées de l'ultravirus, à l'élaboration lente d'un milieu nutritif de la part d'un virus biologiquement affaibli qui n'est pas encore doué de toutes ses activités diastasiques et, par conséquent, prolifératives.

CULTURE DES MICROBES ANAÉROBIES A L'AIDE DE PRODUITS LEUCOCYTAIRES ET BACTÉRIENS

par H. GOLDIE.

I. — TECHNIQUE.

On ensemence deux tubes de bouillon glucosé, additionnés de fragments de viande ou de foie, avec une anse de culture de *B. botulinique* en gélose profonde. Vingt-quatre à quarante-huit heures plus tard, quand le milieu de culture commence à se troubler en totalité, on ajoute à l'un des tubes de l'exsudat leucocytaire stérile (prélevé dans la cavité abdominale du cobaye quatre heures après une injection de 30 cent. cubes de sérum physiologique), à raison de 11 gouttes par centimètre cube de bouillon. Après vingt quatre à quarante-huit heures d'étuve à 37°, on constate que le développement des microbes, la production de gaz (recueilli avec une éprouvette renversée dans le tube) et celle de l'acide (signalée par le virage du tournesol) sont plus intenses dans la culture additionnée d'exsudat que dans le tube témoin. Donc, cette substance stimule le développement du *B. botulinique* et sa fermentation caractéristique.

Si on ensemence VI à X gouttes de ces cultures dans 2 cent. cubes de bouillon ordinaire, on constate que, tandis que la culture témoin ne pousse que sous le vide, la souche additionnée d'exsudat se développe en présence de l'air. Une fois poussée, elle peut être repiquée en série dans un bouillon ordinaire dans des tubes ordinaires; le développement étant plus lent au début, on effectue les repiquages d'abord tous les deux ou trois jours, toujours au moyen d'un ensemencement abondant; puis la souche peut être repiquée tous les jours et cultivée de la sorte en aérobiose.

Cette expérience peut être simplifiée; on part du bouillon de foie non glucosé, additionné d'exsudat, ou bien on ajoute, à

2 cent. cubes de bouillon ordinaire, IV à V gouttes d'exsudat et VI gouttes d'une culture botulinique en milieu liquide. Le développement d'une culture en bouillon, traitée antérieurement par l'exsudat, devient plus abondant en bouillon peptoné. Ce même milieu glucosé et tournesolé permet d'apprécier la rapidité de la fermentation d'une souche à plusieurs stades de son développement.

Le succès de l'adaptation des microbes anaérobies à l'existence aérobie dépend de plusieurs conditions : l'exsudat agit seulement sur les bacilles jeunes, provenant de milieux liquides ; en ce qui concerne les vieilles cultures ou celles développées dans la gélose profonde, ni leurs caractères, ni leur faculté d'adaptation ne sont influencés par l'addition d'exsudat. Une souche cultivée longtemps en aérobiose et ensemencée ensuite en gélose profonde perd, au bout de huit jours, ses caractères acquis et ne pousse plus en présence de l'air.

En somme, on ajoute à une culture de *B. botulinique* de l'exsudat de cobaye ; on la réensemence abondamment trois ou quatre fois à des intervalles de deux à quatre jours en bouillon ordinaire ou peptoné et on procède ensuite à la culture en série à intervalles de vingt-quatre à quarante-huit heures. Nous désignons les souches ainsi traitées sous le nom de souches « adaptées ».

Cette méthode est applicable avec succès à la plupart des souches de *B. botulinique* et de *B. sporogenes*. Elle a réussi avec une souche de *B. perfringens* et une souche de *Vibrio septique* que nous avons à notre disposition. Quelques autres microbes anaérobies, comme le *B. tétanique* et le *B. chauvvi*, exigent un ensemencement très abondant et de plus longs intervalles entre les repiquages. Cependant, un procédé fort simple permet de cultiver de la même manière tous les microbes anaérobies, quels qu'ils soient, en présence de l'air ; c'est le suivant :

Une culture en bouillon de foie est additionnée de II à III gouttes d'exsudat, remise à l'étuve pour vingt quatre heures, et chauffée ensuite pendant une heure à 60° (au bain-marie) ; on ajoute au bouillon ordinaire III à V gouttes de cette culture (ou de son filtrat) par centimètre cube et on l'ensemence ensuite avec III à V gouttes par centimètre cube d'une culture de vingt-

quatre heures de *B. botulinique*, provenant d'une culture normale en milieu liquide. Ces bacilles poussent bien en présence de l'air en bouillon additionné de culture chauffée. La culture ainsi obtenue est à son tour chauffée, et quelques gouttes en sont mélangées au bouillon, ensemencé avec des microbes anaérobies normaux : le développement et la fermentation sont plus marqués que dans la culture précédente. En répétant ce procédé plusieurs fois, on obtient une culture chauffée qui, en petites quantités (1 goutte par centimètre cube) favorise le développement des microbes anaérobies en présence de l'air et stimule leur activité fermentative.

II. — EFFETS DES PRODUITS BACTÉRIENS.

a) SUBSTANCE STIMULANTE. — On ne saurait expliquer le phénomène ci-dessus par le transport des spores qui sont très rares dans les jeunes cultures après le repiquage de vingt-quatre heures. En outre, une culture non adaptée de *B. botulinique* est très peu active après chauffage et seulement si elle contient en très grand nombre des jeunes bacilles. Donc, l'exsudat leucocytaire, les cultures adaptées chauffées et les jeunes bacilles chauffés exercent le même effet sur les microbes anaérobies, et notamment ils activent le développement et la fermentation. Il s'agit donc bien d'une substance bactérienne thermostable et stimulante.

Un tube de bouillon, ensemencé avec des anaérobies adaptés, présente d'abord un trouble diffus, puis, après quelques jours de séjour à l'étuve, le liquide s'éclaircit plus ou moins et les bactéries tombent au fond ; elles y poussent très lentement en agglutinats coalescents, et attaquent peu les protéines et les sucres du milieu (réensemencements bouillon peptoné et glucosé). Chauffées à 60°, elles ne stimulent pas le développement des microbes anaérobies normaux et produisent même l'agglutination des cultures poussées.

b) SUBSTANCE INHIBITRICE. — On sait que les filtrats des vieilles cultures anaérobies contiennent des substances qui permettent la survie du *B. botulinique* ou d'autres anaérobies en présence de l'air, en d'autres termes, qui neutralisent l'effet toxique de

l'oxygène sur les bactéries. Cependant, après le chauffage de une heure à 60°, les filtrats n'exercent plus cet effet protecteur : les bacilles anaérobies normaux y disparaissent peu de temps après l'ensemencement ; les bacilles d'une culture adaptée y survivent en agglutinats, mais ne se multiplient pas. Il est évident que le filtrat de vieilles cultures de *B. botulinique* contient deux substances : l'une, qui protège le développement au contact de l'air, est détruite par le chauffage (substance thermolabile protectrice), l'autre est inhibitrice de la croissance et thermorésistante (substance inhibitrice thermorésistante).

c) SUBSTANCE PROTECTRICE. — Le *B. botulinique* peut se développer au contact de l'air dans les filtrats de vieilles cultures de microbes aérobies. Par conséquent, la substance thermolabile n'est pas spécifique. En outre, elle présente plusieurs des caractères chimiques et physico-chimiques des ferments : elle est absorbable par le kaolin et précipitée par l'alcool absolu ; elle est rapidement détruite par l'oxydation (eau oxygénée), mais résiste à l'acidité. Nous la croyons identique à la catalase, ferment présent en abondance dans les corps des microbes aérobies ; ce ferment assure le métabolisme d'oxydation des bactéries en détruisant leurs produits toxiques (les peroxydes XO_2). Les anaérobies sont très pauvres en ce ferment (Rywošch), d'où leur intolérance à l'oxygène (Avery, MacLeod, Avery et Morgan, McLeod et Gordon, Wieland, etc.). La destruction d'un grand nombre de bactéries, même pauvres en catalase, met en liberté une quantité considérable de cette substance et assure la survie des anaérobies ajoutés. Cette destruction se poursuit lentement dans les cultures normales ; elle est rapide dans la culture adaptée dont l'activité est accélérée et se traduit par sa résistance au contact de l'air. En effet, seules, les vieilles cultures des anaérobies ou leurs cultures adaptées par l'exsudat dégagent l'oxygène de l'eau oxygénée (H_2O_2) comme le font les aérobies. L'effet ne s'observe pas dans les jeunes cultures des anaérobies.

Outre la catalase, la portion thermolabile des filtrats contient la toxine et les ferments, dont certains caractères chimiques ressemblent à ceux de la catalase.

Nous avons signalé l'existence, dans les vieilles cultures nor-

males et adaptées, d'une substance thermorésistante et inhibitrice de croissance : elle est relativement spécifique, par exemple, le filtrat chauffé du *B. botulinique* empêche la croissance du *Vibrio septique* moins que celle du *B. botulinique* : elle est détruite par l'acide (le phénomène d'inhibition n'a pas lieu si le filtrat a été additionné de l'acide et ensuite neutralisé avant l'ensemencement) et par les substances oxydantes (eau oxygénée) ; elle n'est pas adsorbable par le kaolin. Il s'agit probablement de produits aminés solubles dus à la décomposition des bactéries.

La substance activante des microbes jeunes présente des caractères analogues, mais, en plus, elle peut être détruite par l'éther (mélange à parties égales). Par ce dernier procédé et par le chauffage on peut séparer les trois substances en question.

d) RAPPORTS DE CES SUBSTANCES ENTRE ELLES. — Leur origine et leur rapport dans les cultures adaptées ressortent des observations précitées : d'abord une culture d'anaérobies jeunes a été mise en présence d'une substance stimulatrice de leur activité (l'exsudat) ; les microbes ainsi traités ont poussé plus rapidement que ceux de la culture témoin. De nouvelles générations se sont multipliées sous l'influence du même facteur stimulant. Or, la prolifération rapide aboutit toujours à la formation d'un grand nombre d'individus atypiques : on observe, en effet, dans les cultures adaptées, quantité de bacilles très courts et Gram négatifs. Peu adaptés au milieu, modifiés d'ailleurs par les produits de la fermentation intense, ces bacilles périssent rapidement. La culture formée par la succession rapide des générations renferme seulement des bacilles jeunes en très grand nombre, dont plusieurs sont atypiques. Ces derniers accumulent la substance thermostable protectrice de la survie au contact de l'air. Le chauffage révèle, dans la culture adaptée, la présence de la substance activante, provenant des jeunes bacilles. La substance thermorésistante inhibitrice est absente et n'apparaît qu'après un certain temps ; sa présence se traduit par l'agglutination des microbes et le ralentissement de la fermentation dans les cultures.

En somme, la culture « adaptée » par l'exsudat ou par la

substance bactérienne thermorésistante est une culture normale, ordinaire, au développement accéléré. Elle présente, après une brève incubation, les caractères précoces d'une vieille culture, c'est-à-dire qu'elle contient une certaine quantité des produits thermolabiles de la destruction (la catalase) et une grande quantité de microbes. Cependant, tous ces microbes sont jeunes et renferment une substance activante, tandis que les produits thermorésistants des vieux bacilles ont l'effet contraire.

L'exsudat ou la substance bactérienne activante agissent ainsi en accélérant le métabolisme. Etant donné que ce dernier est fermentatif (oxydo-réduction et clivage des hydrates de carbone), on est autorisé à les dénommer « coferments ». La présence de coferments dans les cellules activement fermentatives est notoire. Les caractères physico chimiques des coferments (thermorésistance, destruction par l'éther) correspondent à ceux de la substance en question. De même, il est probable que les jeunes bactéries, pareilles en cela aux autres cellules animales et végétales, contiennent à un certain moment de leur croissance des substances capables de stimuler le développement d'autres bactéries. Cependant, la culture normale jeune se développe lentement; il s'y trouve, à côté des individus jeunes, un nombre relativement grand de vieilles bactéries qui contiennent des substances inhibitrices. Les cultures adaptées ne contiennent que des microbes jeunes, d'où la différence entre l'effet de la souche adaptée et celui de la souche normale après le chauffage.

III. — SUBSTANCES LEUCOCYTAIRES ACTIVANTE ET INHIBITRICE.

On constate également la coexistence des substances stimulantes et inhibitrices dans l'exsudat de cobaye : ajouté en grande quantité (à parties égales) à la culture des anaérobies, il ne l'active que très peu. La substance stimulante provient des leucocytes : le liquide séparé des cellules dès le prélèvement de l'exsudat (au moyen de la centrifugation ou de la sédimentation) ne contient pas cette substance. Les leucocytes sédimentés n'exercent aucun effet après lavage par le sérum physiologique ; la substance active passe dans le liquide après son contact prolongé avec ces leucocytes à l'étuve. Elle se montre thermorésis-

tante et destructible par l'éther ; ses caractères sont donc analogues à ceux de la substance activante bactérienne. Evidemment, il ne s'agit pas d'un effet vital des leucocytes sur les bactéries, mais d'une action des substances leucocytaires. Dans le sang de cobaye centrifugé, les deux parties, le sérum et les leucocytes (couche supérieure des globules) contiennent des substances activantes des anaérobies (I à III gouttes de leucocytes ou de sérum par centimètre cube de bouillon). Cependant, le développement est plus faible qu'avec l'exsudat. Les bactéries s'agglutinent bientôt et disparaissent après quelques repiquages. Le même phénomène d'inhibition à côté de la stimulation est évident dans les expériences sur l'action du sang, de l'homme ou du lapin sur les anaérobies. L'effet bactéricide du sérum et des leucocytes de ces espèces animales sur les microbes anaérobies a été signalé par Petterson et par Bergman. D'après ces auteurs, l'exsudat et le sang de cobaye ne produisent pas cet effet. Dans nos expériences, le sang de l'homme ou du lapin, mais seulement très dilué, a pu favoriser la survie des anaérobies, mais les repiquages en série s'avérèrent impossibles.

CONCLUSIONS.

En résumé, le métabolisme intense, sous l'influence des produits leucocytaires ou bactériens, présente les caractères essentiels de nos cultures adaptées. La faculté de la survie, au contact de l'air, est due aux produits de la prolifération et de la destruction intense des microbes. La substance des bactéries proliférées est capable de stimuler les germes normaux. Les produits d'une culture adaptée provoquent l'adaptation (activation du métabolisme) d'une culture normale qui, ensuite, peut influencer dans le même sens une nouvelle culture normale, etc. En chauffant la culture adaptée et en ajoutant quelques gouttes à une culture normale d'anaérobies, on effectue une série illimitée de passages. On observe, de la sorte, le phénomène de l'« activation transmissible ».

*(Institut Pasteur, service du professeur Weinberg
et Laboratoire de Microbiologie alimentaire,
service de M. Forgeot.)*

BIBLIOGRAPHIE

- O. T. AVERY : *Proc. Soc. Exp. Biol.*, n° 21, 1923, p. 59.
O. T. AVERY et H. J. MORGAN : *J. E. Med.*, n° 39, 1924, p. 289.
O. T. AVERY et NEILL : *J. E. Med.*, n° 39, 1924, p. 347.
R. BERGMANN : *Acta Soc. Med. Sued.*, n° 51, 1925.
H. GOLDIE : *C. B. Soc. Biol.*, n° 108, 1931, p. 762.
H. GOLDIE : *C. R. Soc. Biol.*, n° 108, 1931, p. 840.
H. GOLDIE : *C. R. Soc. Biol.*, n° 107, 1931, p. 1065.
H. GOLDIE : *C. f. B.*, n° 117, 1930, p. 384.
Mac LEOD et GORDON : *Bioch. Journ.*, n° 16, 1922, p. 499.
Mac LEOD : *J. of Path. and Bact.*, n° 28, 1925, p. 147.
Mac LEOD : *J. of Path. and Bact.*, n° 26, 1923, p. 322.
Mac LEOD : *J. of Path. and Bact.*, n° 26, 1923, p. 328.
Mac LEOD : *Acta Path. Scand.*, n° 20, 1930, p. 253.
PETTERSON : *Z. f. Imm.*, n° 40, 1924, p. 43.
PETTERSON : *Z. f. Imm.*, n° 48, 1926, p. 233.
RYWQSCH : *C. f. B.*, n° 44, 1907, p. 295.

RECHERCHES SUR LA TEMPÉRATURE CRITIQUE DU SÉRUM

(CINQUIÈME MÉMOIRE)

ÉQUILIBRES IONIQUES DU SÉRUM EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE

par P. LECOMTE DU NOÛY

J'ai, dans une série de travaux publiés ici même, exposé en détail les faits expérimentaux révélés par l'étude systématique des propriétés physiques et physico-chimiques du sérum sanguin, en particulier du sérum de cheval. Pour diverses raisons, tant biologiques que physiques, j'ai été amené à considérer les phénomènes dynamiquement, en fonction de la température, et j'ai montré que la température critique au point de vue biologique (55° - 57°) était accompagnée d'une série de phénomènes physiques et physico-chimiques, débutant aux environs de cette température, et dont l'amplitude variait ensuite en fonction de celle-ci. Ces observations sont de nature à faciliter la compréhension de certains phénomènes empiriquement connus jusqu'ici, mais dont le mécanisme nous échappait complètement, à savoir : l'hydratation des protéines du sérum et leur coagulation par la chaleur. On peut espérer également, en continuant dans cette voie, que les mécanismes de la destruction de l'« alexine » et de la « sensibilisatrice » pourront un jour être analysés et compris.

Avant de procéder à l'exposition des résultats expérimentaux qui ont fait l'objet de nos dernières recherches, il est peut-être bon de rappeler les points saillants des conclusions que nous avons atteintes précédemment.

1° Les protéines du sérum subissent une hydratation quand la température s'élève et cette hydratation ne devient irréversible que lorsque la température dépasse 55° , pour des chauffages de l'ordre de dix minutes (mesures de viscosité). Il est

probable qu'une hydratation préalable et réversible commence vers 45° (1).

2° A 56°-57° un minimum absolu de la viscosité est atteint, lequel correspond apparemment au début du phénomène irréversible. Au-dessus de 57° la viscosité augmente rapidement (1).

3° La fixation d'eau a pour effet d'accroître les dimensions des molécules dont le volume augmente régulièrement à partir de 55° pour dix minutes de chauffage. Pour des temps de chauffage plus longs, les courbes représentant l'augmentation de volume, et l'accroissement de pouvoir rotatoire en fonction de la température sont décalées parallèlement à elles-mêmes, vers les températures plus basses (2).

4° Pendant le chauffage, l'anisotropie optique des molécules est modifiée et augmente régulièrement. Les courbes exprimant le facteur de dépolarisation en fonction de la température ont une allure logarithmique (3).

L'analyse des faits expérimentaux précédents, ainsi que d'autres plus anciens, conduit aux conséquences suivantes (3) :

A. Le sérum est une solution vraie et non pas une solution colloïdale au sens d'agrégats de molécules.

B. La dispersion moléculaire des protéines ne varie pas au cours du chauffage, jusqu'à et y compris la coagulation. Ceci a été confirmé dernièrement par Boutaric (4). Il ne se produit pas d'agrégats quand on chauffe, puisque le nombre de molécules reste constant dans les limites de l'expérience, aux erreurs expérimentales près.

C. Tout se passe comme si l'hydratation irréversible des molécules de protéine du sérum se produisait à l'intérieur et non, comme on l'a cru jusqu'ici, à l'extérieur de la molécule. Les molécules d'eau pénètrent probablement entre les branches ramifiées formées par les amino-acides et les forcent à s'écarter, augmentant ainsi le volume total. La nature de la fixation de l'eau est encore inconnue et fait actuellement l'objet de recherches dans mon laboratoire. Cette hypothèse n'est pas en

(1) Lecomte du Nouy. Ces *Annales*, **42**, 1928, p. 742.

(2) Lecomte du Nouy. *Id.*, **43**, 1929, p. 749 et **44**, 1930, p. 109.

(3) Lecomte du Nouy. Ces *Annales*, **45**, 1930, p. 251.

(4) A. Boutaric. *Bull. Soc. Chim.*, 4^e série, **49**, 1931, p. 389.

contradiction avec la théorie de Debye-Hückel (périssphère d'eau adsorbée), car cette théorie n'est valable que pour des molécules assimilables à des sphères et à charge électrique ponctuelle. Or, ni l'une ni l'autre de ces conditions n'est applicable aux molécules des protéines, qui sont asymétriques et composées d'acides-amino échafaudés les uns sur les autres.

Tous les faits rapportés ci-dessus ont été étudiés sans tenir compte des phénomènes ioniques corrélatifs qui jouent probablement un rôle important. C'est intentionnellement que je les ai laissés de côté jusqu'ici afin de simplifier arbitrairement les problèmes et d'obtenir une vue d'ensemble et une idée générale de l'évolution des phénomènes physiques et physico-chimiques consécutifs au chauffage.

Le but du présent mémoire est d'exposer les résultats expérimentaux préliminaires obtenus en étudiant les phénomènes ioniques en eux-mêmes.

PRÉCIPITATION DES GLOBULINES PAR ADDITION D'EAU.

Sérum non chauffé. — On sait depuis longtemps que la stabilité de certains éléments protéiques du sérum (globulines) dépend, entre autres facteurs, de la concentration des sels. Quand on dilue du sérum au moyen d'eau distillée, il se produit un trouble, suivi généralement de la précipitation d'une partie des globulines. Rien de semblable n'est observé quand la dilution est obtenue au moyen de solution physiologique à 9 p. 1.000. La diminution de concentration des sels entraîne donc une diminution de la solubilité des globulines. On peut envisager deux mécanismes possibles de ce phénomène : ou bien il s'agit véritablement d'une insolubilisation, qui peut être due à un changement dans l'ionisation des chlorures de globulines et autres sels de globulines existant librement en solution, ou bien il s'agit simplement de la séparation de la molécule complexe de sérum en deux éléments : albumine soluble d'un côté, globuline insoluble de l'autre. Le seul fait de séparer ces deux molécules entraînerait la précipitation de celle qui, étant normalement insoluble, empruntait son apparente solubilité au fait de son accolement — de quelque nature qu'il soit — à une autre substance (albumine) moléculairement dispersée.

Cette question sera étudiée postérieurement. Je me propose aujourd'hui de donner les résultats expérimentaux obtenus en suivant quantitativement le phénomène de précipitation consécutif à l'addition d'eau distillée, dans le sérum normal non chauffé et chauffé.

TABLEAU I. — **Lumière diffusée par un sérum de cheval normal après addition d'eau distillée.**

NOMBRE de centimètres cubes d'eau ajoutés à 1 cent. cube de sérum	CONCENTRATION relative en sels p. 100	LECTURES : $\text{LOG } \frac{I_0}{I}$	
		Après 1 heure	Après 4 heures
Sérum pur.	1	2,18	2,23
+ 1	0,50	2,12	2,14
2	0,33	2,06	2,08
3	0,25	1,84	1,50
4	0,20	1,30	1,30
5	0,168	1,17	1,21
6	0,143	1,15	1,16
7	0,125	1,12	1,14
8	0,115	1,12	1,14
9	0,100	1,13	1,15
10	0,091	1,15	1,17
11	0,083	1,17	1,19

La méthode que nous avons employée possède l'avantage d'être très rapide, et d'une précision au moins aussi grande que la méthode des pesées, en raison du nombre considérable de causes d'erreurs dues aux nombreuses manipulations que nécessite cette dernière. Nous avons simplement mesuré la quantité de lumière diffusée à angle droit par la solution au moyen de l'appareil précédemment décrit (1) en employant pour monochromatiser la lumière un filtre bleu de Wratten n° 45 B, qui laisse passer une longueur d'onde dominante de 4.800 Angströms. Les chiffres obtenus expriment la valeur de $\text{log } \frac{I_0}{I}$, c'est-à-dire le rapport de l'intensité de la lumière incidente à celle de la lumière diffusée. On sait que cette valeur est proportionnelle au nombre de particules diffusantes (lorsque celles-ci sont très petites) et au carré de leur volume (en

(1) LECOMTE DU NOUY. *Ces Annales*, 45, 1930, p. 251.

admettant que leur forme ne s'écarte pas beaucoup de celle d'une sphère). Le tableau I exprime les résultats d'une série de mesures, et représente bien l'allure générale du phénomène (fig. 1 et 2).

Les mesures furent exécutées une heure et quatre heures

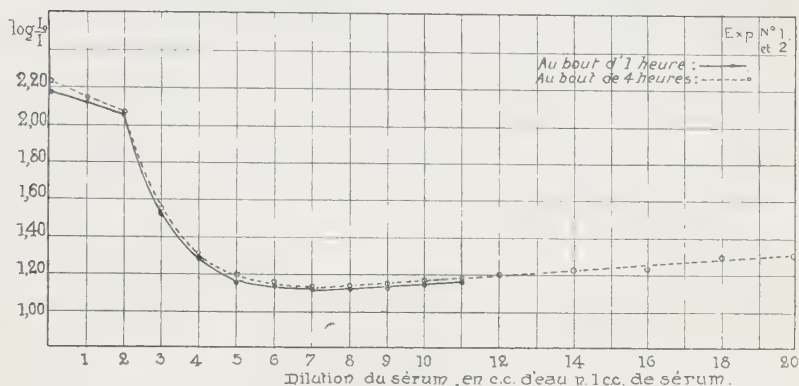


FIG. 1. — Lumière diffusée latéralement par un sérum de cheval normal après addition de quantités variables d'eau distillée. Les chiffres indiquant les valeurs de $\log \frac{I_0}{I}$ diminuent quand la lumière diffusée augmente, c'est-à-dire quand la solution devient de plus en plus trouble.

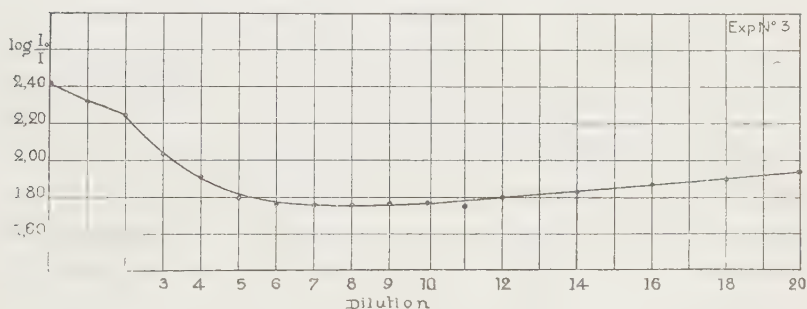


FIG. 2. — Même expérience que celle représentée par la figure 1. Sérum différent.

après la préparation des solutions, celles-ci étant agitées de façon à présenter un aspect homogène. De 0 (sérum pur) à 200 p. 100 (1 cent. cube de sérum + 2 cent. cubes d'eau), la quantité de lumière diffusée augmente peu et de façon sensiblement proportionnelle à la dilution. A partir de 200 p. 100, une augmentation brusque se produit, très nette sur les courbes

qui prennent une allure logarithmique. La figure 3 montre, par comparaison, l'allure de la courbe quand le sérum est dilué avec de la solution physiologique au lieu d'eau distillée.

Vers 500 p. 100 (5 cent. cubes d'eau + 1 cent. cube de sérum) un plateau est presque atteint. Ce plateau se continue jusqu'aux environs de 900 p. 100, et à ce moment là seulement la lumière diffusée commence à diminuer. (Les chiffres du tableau exprimant $\log \frac{I_0}{I}$ sont inversement proportionnels à l'intensité de la lumière diffusée, ce qui explique qu'ils diminuent d'abord pour augmenter ensuite.) Pour une addition de 5 cent. cubes d'eau

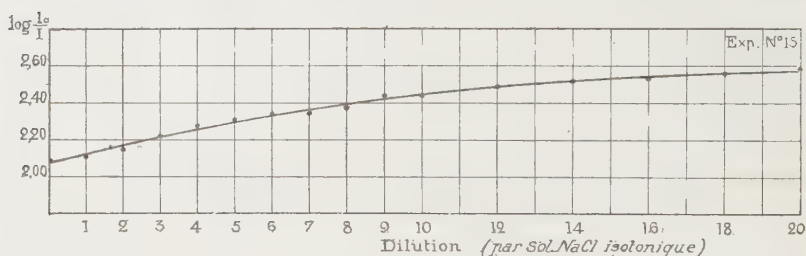


FIG. 3. — Lumière diffusée latéralement par un sérum de cheval normal; après addition de quantités variables de solution physiologique. La lumière diffusée diminue avec la dilution.

à 1 cent. cube de sérum, la lumière diffusée peut augmenter dans la proportion de 1 à 13.

Il est évident que le phénomène n'est aussi clair qu'en raison de la haute teneur du sérum de cheval en globulines insolubles. Les traités de physiologie et de biochimie indiquent en effet les quantités de globuline moyennes suivantes pour différents sérums :

Cheval	4,3 p. 100
Bœuf	3,5 —
Mouton	2,3 —
Porc	1,8 —
Lapin	2,0 —

La courbe obtenue pour le sérum de bœuf est très analogue à celle du cheval, mais on n'observe pas la cassure correspondant à la dilution au tiers des sels initiaux, qui caractérise la courbe du sérum de cheval. Quant aux autres animaux dont le sérum

est pauvre en globulines (environ la moitié du sérum de cheval), ils fournissent une courbe tout à fait différente, à convexité tournée vers le haut, très voisine de celle obtenue en diluant le sérum avec de la solution isotonique à 0.9 p. 100. La figure 4 donne les résultats obtenus avec du sérum de mouton.

Il est à remarquer que le phénomène semble d'autant plus marqué que le cheval a été soumis à des saignées plus fréquentes. Tout se passe en somme comme si les saignées répétées

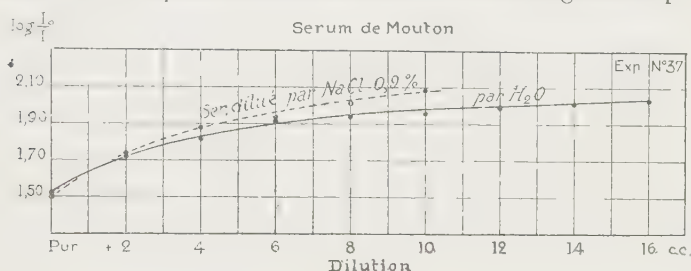


FIG. 4. — Expérience semblable à celles des figures 1, 2 et 3, mais avec du sérum de mouton à faible teneur en globulines.

avaient pour effet l'augmentation des éléments insolubles du sérum.

ACTION DE LA TEMPÉRATURE.

Lorsque le sérum de cheval est chauffé pendant dix minutes

TABLEAU II. — **Lumière diffusée par un sérum de cheval chauffé dix minutes, après addition d'eau distillée.**

NOMBRE de centimètres cubes d'eau ajoutés	LECTURES : $\text{LOG } \frac{I_0}{I}$			
	Sérum non chauffé	Chauffé à 56°	Chauffé à 60°	Chauffé à 64°
0.	1,98	1,96	1,72	1,19
0,5.	1,98	1,96	1,62	1,09
1.	1,99	1,92	1,59	1,05
1,5.	1,98	1,84	1,54	1,00
2.	1,95	1,68	1,53	1,03
3.	1,63	1,56	1,39	1,05
4.	1,33	1,47	1,32	1,04
5.	1,25	1,40	1,31	1,07

à différentes températures, l'allure des courbes exprimant la

précipitation des globulines est modifiée. Les figures 5 et 6 montrent que la quantité de lumière diffusée, c'est-à-dire le nombre, ou le volume (ou les deux) des particules diffusantes,

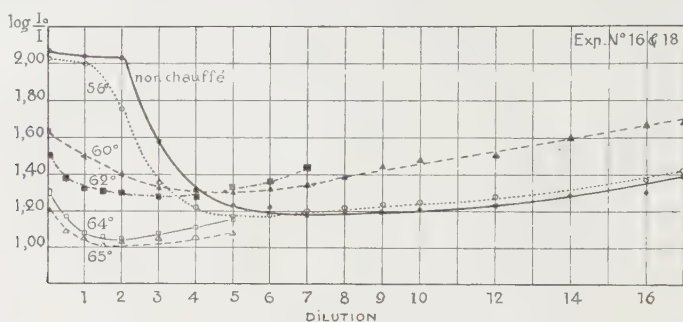


FIG. 5. — Lumière diffusée par du sérum de cheval normal non chauffé (trait plein) et chauffé, en fonction de la dilution par de l'eau distillée. Les chiffres des abscisses expriment le nombre de centimètres cubes d'eau ajoutés à 1 cent. cube de sérum. Temps de chauffage : dix minutes.

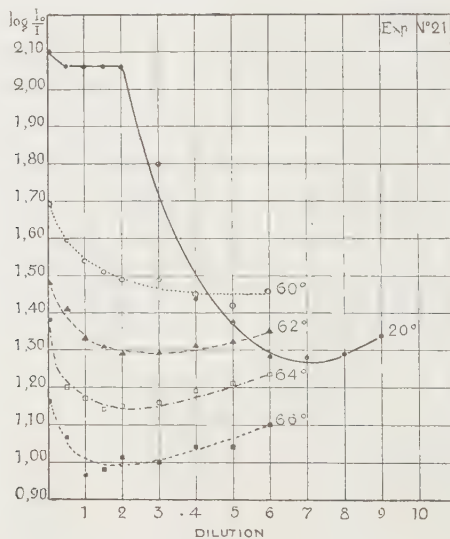


FIG. 6. — Même expérience que les nos 16 et 18 (fig. 5). L'échelle des ordonnées a été modifiée pour la clarté des courbes (chauffage : dix minutes).

est augmenté. A chaque température correspond une dilution optima pour laquelle la quantité de lumière diffusée latéralement est maxima. Ce maximum peut être dû, soit à l'augmentation

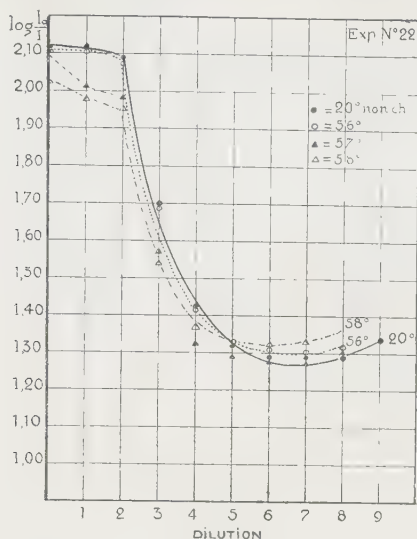


FIG. 7. — Même expérience que le n° 21, mais pour des chauffages ne dépassant pas 58° (chauffage : dix minutes). On voit que pour ce sérum, le même que celui de l'expérience n° 21, l'action de la chaleur est faible jusqu'à 58°, et ne se manifeste de façon importante qu'à partir de 59° (voir fig. 6).

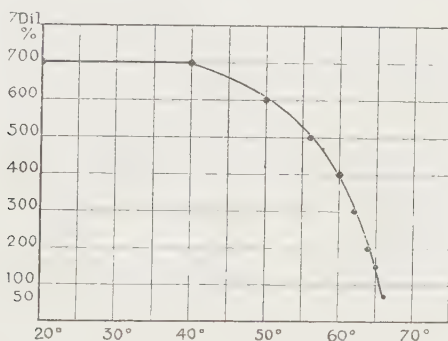


FIG. 8. — Courbe exprimant, en fonction de la température, le déplacement des minima des courbes semblables à celles des figures 5, 6 et 7. Sur ces figures, on voit que les courbes correspondant à une température déterminée descendent, puis remontent. Le point minimum (qui correspond à un maximum de lumière diffusée) change pour chaque courbe et correspond à une dilution déterminée. Ce sont ces déplacements, toujours dans le même sens quand la température s'élève, que la présente courbe exprime, pour un sérum de cheval donné. On voit que la lumière diffusée est maximum pour une dilution de 400 p. 100, quand le sérum a été chauffé à 60° pendant dix minutes, tandis que ce maximum a lieu à 700 p. 100 pour un sérum chauffé à 40°.

de volume, soit à l'accroissement du nombre des particules diffusantes, soit à ces deux facteurs. Il ressort clairement des courbes que plus la température est élevée, moins le sérum doit être dilué pour obtenir le maximum de précipitation : pour le sérum particulier de l'expérience représentée par la figure 5, ce maximum est obtenu à la dilution de 700 p. 100 dans le sérum non chauffé et de 150 p. 100 dans le sérum chauffé à 65°. Ou bien l'insolubilité des globulines augmente, ou bien le complexe albumine-globuline devient plus fragile. Le déplacement du maximum (qui correspond à un minimum sur les figures, en raison des mesures qui expriment la valeur de $\log \frac{I_0}{I}$) commence vers 50°. Mais la figure 7 montre que l'allure générale des courbes n'est modifiée profondément qu'au-dessus de 57° dans le sérum étudié. La figure 8 donne l'aspect général du phénomène de déplacement, c'est-à-dire, pour chaque température, la dilution à laquelle correspond le maximum de lumière diffusée pour un sérum donné chauffé préalablement à la dilution.

REDISSOLUTION DU PRÉCIPITÉ.

Le précipité de globulines est redissous en général complètement par addition de NaCl. Quand le sérum (cheval normal) a été dilué de cinq fois son volume d'eau distillée, il suffit de ramener la concentration en sels entre 30 et 40 p. 100 de la valeur initiale, par NaCl, pour entraîner la dissolution presque totale. On observe ensuite un plateau (fig. 9) plus ou moins horizontal, et la dissolution est sensiblement complète (les lectures au photomètre remontent à leur valeur primitive) à 100 p. 100. Quand le sérum dilué a été légèrement acidifié ($0 \text{ c.c. } 1 \text{ à } 0 \text{ c.c. } 3 \text{ d'une solution } \text{HCl } \frac{N}{10}$) pour déterminer une précipitation plus abondante, les quantités intermédiaires de NaCl sont moins efficaces, mais quand on atteint 100 p. 100 la dissolution est pratiquement complète également. Quand on ajoute NaCl sous forme d'une solution à 1 p. 100, on dilue les protéines en augmentant la concentration du sel. On obtient alors les courbes de la figure 10 qui montrent que la redissolution est toujours presque complète quand le taux de 30 p. 100

environ est rétabli. Dans cette expérience, la redissolution était produite par des quantités différentes (1, 2 et 3 cent. cubes) d'une solution de NaCl à 1 p. 100. Les points d'incurvation

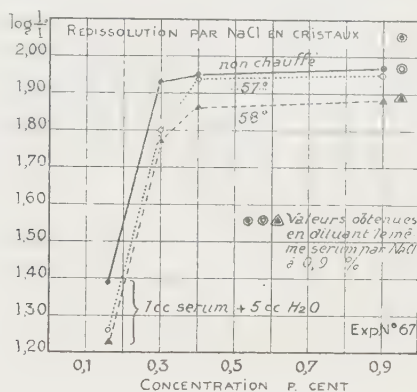


FIG. 9. — Redissolution du précipité de globulines par l'addition de NaCl en cristaux. On voit que la redissolution est presque complète dès que la concentration des sels atteint environ 0,4 p. 100.

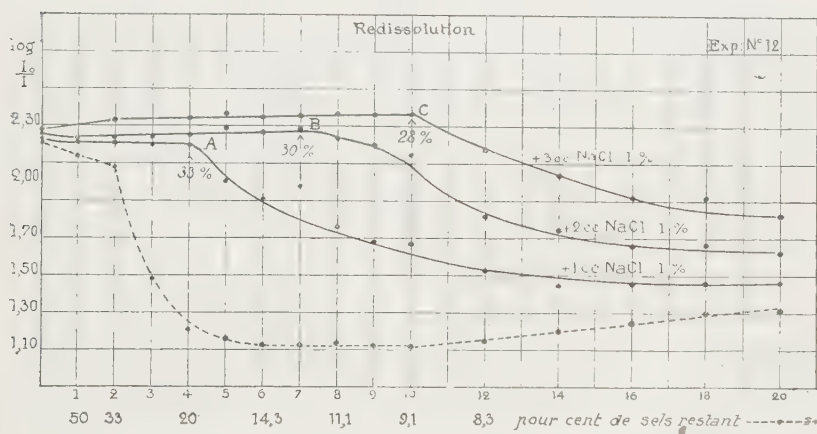


FIG. 10. — Redissolution du précipité de globulines par addition de NaCl en solution à 1 p. 100. Aux environs de 30 p. 100, la dissolution est presque complète et n'augmente guère par accroissement de la concentration.

A, B, C, des courbes (qui correspondent à la limite de la redissolution pratiquement totale), se trouvent aux concentrations 33, 30 et 28 p. 100 de la concentration normale des sels. Pour ce sérum (cheval normal), cette valeur est donc critique, comme le montraient les figures 1 et 2.

VITESSE DE SÉDIMENTATION DES GLOBULINES.

Il existe une différence d'aspect nette entre les précipités de globuline formés lors de l'addition d'eau, suivant les températures auxquelles le sérum a été porté préalablement. Pour remplacer une description forcément imprécise et subjective du phénomène par des mesures quantitatives, nous avons mesuré la vitesse de sédimentation du précipité en appliquant

TABLEAU III.

TEMPS	LECTURES : $\text{LOG } \frac{I_0}{I}$			
	Non chauffé	Chauffé pendant 10 minutes à		
		56°	57°	58°
0 minutes . . .	1,33	1,31	1,26	1,25
5 minutes . . .	1,33	1,32	1,25	1,25
10 minutes . . .	1,34	1,32	1,25	1,24
15 minutes . . .	1,34	1,33	1,25	1,24
20 minutes . . .	1,34	1,32	1,25	1,24
25 minutes . . .	1,35	1,32	1,24	1,24
30 minutes . . .	1,66	1,33	1,24	1,24
35 minutes . . .	1,73	1,28	1,23	1,25
40 minutes . . .	1,86	1,32	1,14	1,24
45 minutes . . .	1,91	1,72	1,13	1,24
50 minutes . . .	1,95	1,82	1,55	1,25
60 minutes . . .	1,97	1,93	1,66	1,25
75 minutes . . .	2,04	2,03	1,77	1,25
90 minutes . . .	2,10	2,03	1,80	1,26
105 minutes . . .	2,15	2,03	1,85	1,26
2 heures . . .	2,21	2,03		1,27
3 heures . . .				1,29
5 heures . . .			2,05	
7 heures . . .			2,15	
18 heures . . .	2,42	2,31		1,45

la même méthode que précédemment, c'est-à-dire en mesurant l'intensité relative de la lumière diffusée à angle droit par la solution. Les lectures, correspondant aux valeurs de $\text{log } \frac{I_0}{I}$, furent faites de cinq en cinq minutes pendant trois heures ou davantage. Le tableau ci-dessus exprime les résultats d'une série de mesures exécutées sur un sérum frais de cheval normal dilué de cinq fois son volume d'eau distillée, de réaction légè-

rement acide. Cette dilution, nous l'avons établi dans nos expériences précédentes, correspond à peu près à un plateau dans la courbe représentant $\log \frac{I_0}{I}$ (voir fig. 1 et 2). Dans ce tableau, les chiffres indiquent les valeurs de $\log \frac{I_0}{I}$ (tableau III, exp. n° 16 et fig. 11 et 12, exp. n° 26 et 38).

On remarquera que les sérums chauffés à 56° et à 57° (puis refroidis) présentent une légère diminution de $\log \frac{I_0}{I}$, qui correspond à une *augmentation* momentanée de la lumière diffusée, au bout de trente-cinq minutes dans le premier cas, et de quarante minutes dans le second. Cet accroissement est suivi d'une *diminution* brusque qui se poursuit suivant une courbe régulière, sensiblement parallèle à celle du sérum non chauffé. Ce phénomène exprime simplement l'éclaircissement progressif de la solution au fur et à mesure que les globulines précipitées se sédimentent dans la cuve. Mais le fait important et très significatif est que rien de semblable ne se produit dans le sérum chauffé à 58°. En d'autres termes, dans ce dernier sérum, *il n'y a pas sédimentation*, la suspension des globulines est stable. Ce n'est qu'à la dix-huitième heure qu'on observe un début marqué d'éclaircissement. Quand le sérum a été chauffé à 60°, 62° et 64° on n'observe aucun éclaircissement au bout de dix-huit et même vingt-deux heures. Dans le sérum frais, non chauffé ou chauffé au-dessus de 58°, la vitesse de sédimentation est considérable, puisqu'au maximum (entre la vingt-cinquième et la trentième minute pour le non chauffé, entre la quarantième et la quarante-cinquième pour celui qui fut chauffé à 56° et entre la quarante-cinquième et la cinquantième pour celui qui fut chauffé à 57°), le nombre de particules diffusantes est diminué de plus de moitié dans un volume donné en cinq minutes. Il ne faut pas perdre de vue, en effet, que les chiffres du tableau représentent des différences entre logarithmes. Nous ne pouvons cependant interpréter les chiffres de façon à comprendre entièrement le mécanisme du phénomène, car la formule de Rayleigh ne s'applique, en toute rigueur, qu'à des particules petites par rapport à la longueur d'onde de la lumière et nous ne savons pas encore l'ordre de grandeur de celles-ci.

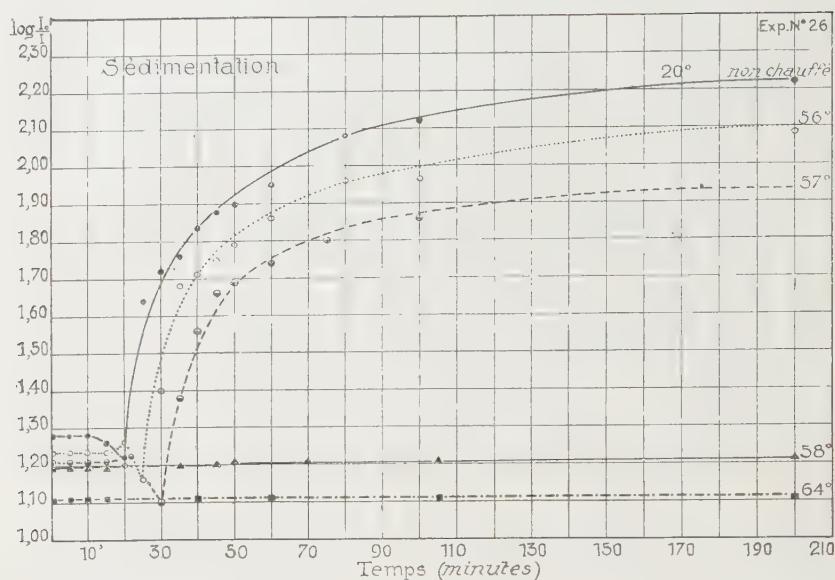


FIG. 11. — Sédimentation des globulines. Les courbes expriment l'éclaircissement progressif de la solution de sérum. On voit que le sérum chauffé jusqu'à 57° pendant dix minutes s'éclaircit, c'est-à-dire que les globulines se sédimentent, tandis qu'à partir de 58° la solution, d'aspect opalin, est stable.

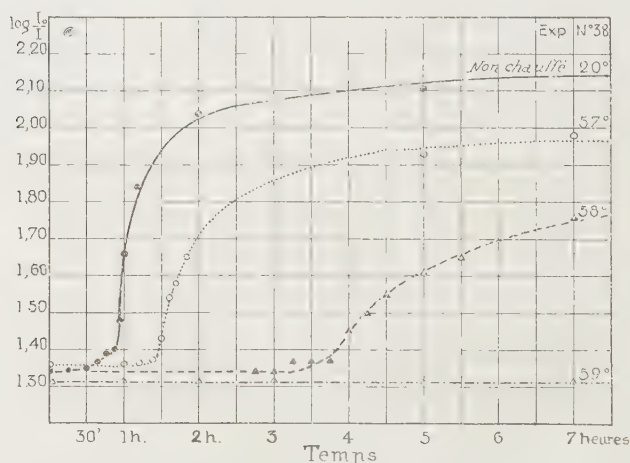


FIG. 12. — Même expérience que précédemment (n° 26, fig. 11). Avec ce sérum, le phénomène fut beaucoup plus long à se déclencher.

Nous avons donc un phénomène nouveau, à ajouter aux quatre que nous avons signalés précédemment (viscosité, pouvoir rotatoire, lumière diffusée, facteur de dépolarisation) qui caractérise les importantes modifications physico-chimiques accompagnant le chauffage du sérum au-dessus de 57°. Mais ce dernier nous apporte une précision nouvelle, car il nous montre qu'apparemment ce sont les globulines qui sont le plus profondément affectées entre 57° et 58°. Cette température n'a cependant rien d'absolu : certains chevaux ont accusé le même phénomène entre 58° et 59°. D'autres entre 56° et 57°. Mais l'écart de 1° est toujours suffisant pour établir une différence extrêmement nette entre les courbes.

Ce phénomène (1), que nous avons toujours retrouvé dans ses grandes lignes, ne se reproduit pas toujours au bout du même laps de temps. Dans certains cas, il s'est produit au bout de quatre heures. Dans un cas, dix-huit heures se sont écoulées avant que la sédimentation se produise. Il est en général plus net quand on acidifie la solution par 0 c. c. 1 de $\text{HCl} \frac{\text{N}}{10}$. La valeur du pH joue évidemment un rôle important. Mais l'acidification doit être faible, car on sait qu'en l'augmentant légèrement on détermine la redissolution du précipité.

SÉDIMENTATION EN FONCTION DE LA TEMPÉRATURE.

Si l'on porte en abscisses les températures, on met également en évidence le point critique des courbes. Dans l'expérience n° 39 (fig. 43) et les expériences 41, 44 et 46 (fig. 44 et 45), la courbe supérieure correspond aux lectures faites sur le sérum chauffé et dilué (toujours de cinq fois son volume d'eau), sans agitation préalable, c'est-à-dire avec le dépôt sédimenté au fond de la cuve, tandis que la courbe inférieure correspond aux mêmes solutions agitées de façon à remettre le dépôt en suspension. Vingt-quatre heures après la dilution, on observe que les courbes se rejoignent quand le sérum a été soumis au chauffage de dix minutes à une température de 58°, ce qui signifie qu'il ne s'est produit aucune sédimentation.

(1) P. LECOMTE DU NOUY et V. HAMON. *C. R. Soc. Biol.*, 106, 1931, p. 352.

Ce point correspond à la suspension stable des globulines.
Les courbes sont analogues, qu'il s'agisse de sérum de lapin

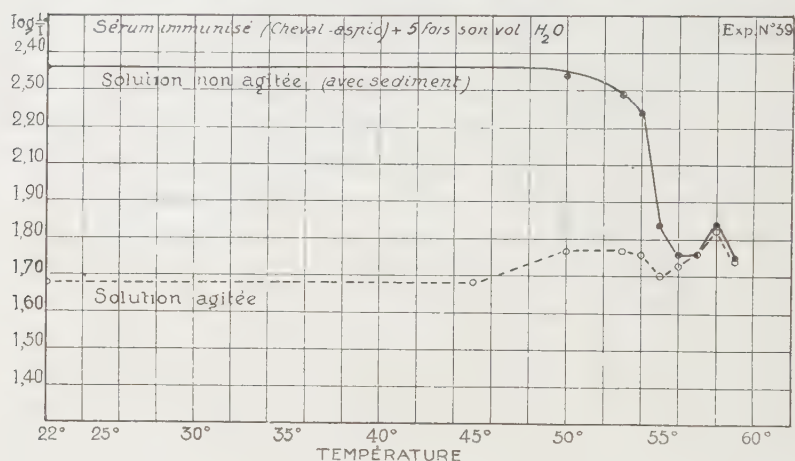


FIG. 13. — Lumière diffusée par les dilutions de sérum à 600 p. 100, en fonction de la température à laquelle le sérum a préalablement été porté pendant dix minutes. La courbe supérieure (disques noirs), représente les valeurs obtenues avec la solution non agitée, le précipité étant sédimenté au fond de la cuve; la courbe inférieure (cercles blancs) représente au contraire les valeurs obtenues avec les mêmes solutions agitées pour remettre le précipité en suspension. A 57° les courbes se rejoignent: l'agitation ne joue plus aucun rôle, la suspension étant stable.

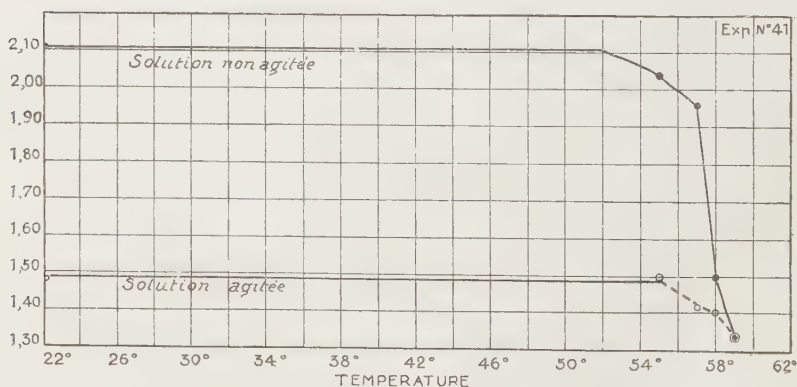


FIG. 14. — Même expérience que le n° 39 (fig. 13).

(fig. 15), de mouton ou de porc. Le sérum dilué de bœuf donne, à partir de 60°, en vingt-quatre heures, un précipité

très abondant [qui ne sédimente pas, et qui devient de plus en plus opaque à mesure que la température augmente : à 67°, nous avons observé une valeur de $\log \frac{I_0}{I}$ proche de 1,00. A 60°,

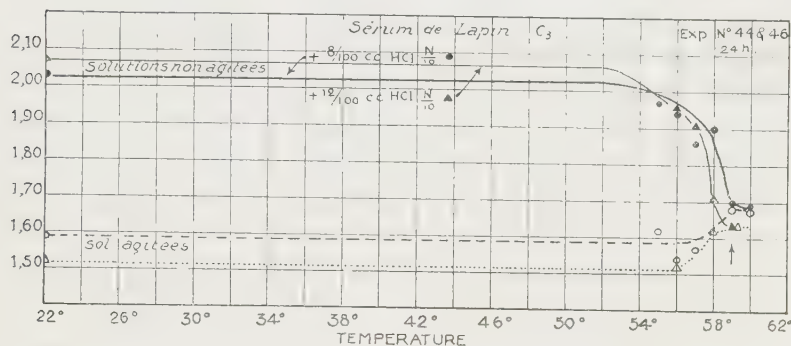


FIG. 15. — Mêmes expériences que celles des figures 13 et 14, mais avec du sérum de lapin et après addition de faibles quantités d'acide.

elle était voisine de 2, ce qui signifie que la lumière diffusée a décuplé pour une différence de température de 7°.

ACTION DE LA DURÉE DU CHAUFFAGE.

Jusqu'ici, nous avons toujours considéré des sérums chauffés pendant dix minutes. Lorsque le chauffage est prolongé à température constante, le point qui correspond à la réunion des courbes (fig. 13, 14, 15) [point critique de suspension stable des globulines] est déplacé du côté des basses températures. Pour le cheval, par exemple, en deux heures de chauffage, ce point se trouve (dans une série d'expériences) à 53°; pour une heure de chauffage, à 54° et pour cinq minutes à 58°. La figure 16 montre l'allure générale du phénomène de déplacement du point critique.

Quand on laisse le précipité pendant trois jours (au lieu de vingt-quatre heures) en contact avec la solution, il est altéré et ne se redissout pas entièrement par addition de NaCl.

*
* *

On peut essayer de se rendre compte expérimentalement si ce point critique — aux environs de 58° pour un chauffage de

dix minutes — correspond à un changement d'état dans la dispersion des globulines. Il suffit pour cela d'avoir recours au facteur de dépolarisation qui a été étudié dans un précédent mémoire (1). Je rappelle que le facteur de dépolarisation (ρ) est égal au rapport $\frac{I_H}{I_V}$ du faisceau lumineux polarisé horizontalement au faisceau polarisé verticalement, diffusés latéralement par un liquide ou une solution. Si le faisceau diffusé est complètement polarisé rectilinéairement avec vibrations verti-

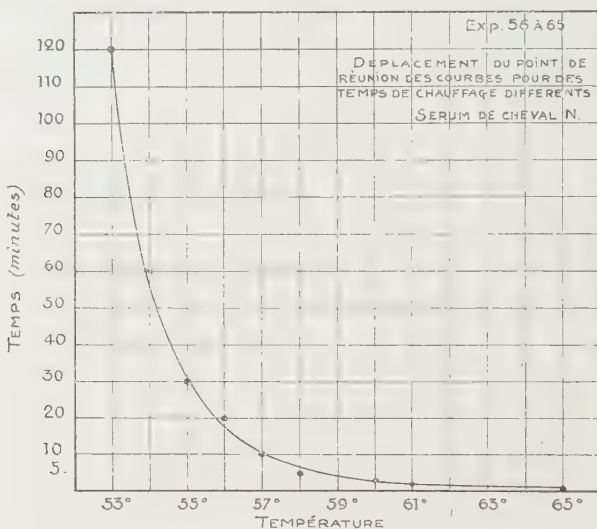


FIG. 16. — Courbe représentant, pour un sérum normal de cheval, le déplacement du point de rencontre (point critique de stabilité) des courbes telles que celles des figures 13, 14 et 15, mais pour des sérums chauffés pendant des temps différents. On voit qu'à partir de 55° l'influence du temps de chauffage est bien plus importante qu'au-dessous de 55°.

cales, $I_H = 0$ donc $\rho = 0$. Si le faisceau diffusé est complètement dépolarisé, c'est-à-dire formé de lumière naturelle, $I_H = I_V$ donc $\rho = 1$. Donc ρ est toujours compris entre 0 et 1 et sa valeur est d'autant plus élevée que le faisceau diffusé contient moins de lumière polarisée verticalement. Le rapport ρ dépend, entre autres facteurs, de l'anisotropie optique moléculaire. Les particules ultra-microscopiques colloïdales sont

(1) Lecomte du Nouy. Ces *Annales*, 43, 1930, p. 251.

généralement sphériques et isotropes, et tendent à diminuer la valeur de ρ . Un liquide qui diffuse une lumière à peu près complètement polarisée est une solution colloïdale et non un liquide homogène.

J'ai montré que le sérum pur — et faiblement dilué par de la solution physiologique — ne se comportait nullement

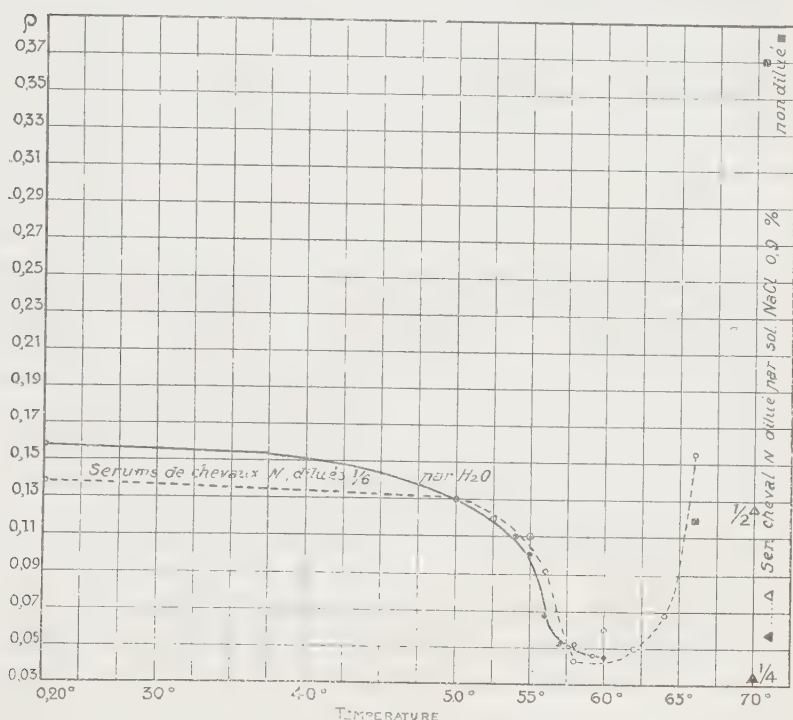


FIG. 17. — Facteur de dépolarisation ρ de solutions de sérum de cheval, en fonction de la température. On observe une diminution importante à partir de 55°, diminution qui n'est jamais observée quand le sérum est dilué au moyen de la solution physiologique de NaCl à 0,9 p. 100. Les triangles blanc et noir correspondent aux valeurs obtenues avec un sérum ainsi dilué au 1/4 et à 1/2. On constate que ces valeurs sont plus basses que celles observées avec le sérum dilué au 1/6 par H₂O.

comme une solution colloïdale, mais au contraire comme une solution vraie, et que ρ augmentait considérablement lors du chauffage. Ceci indiquait que l'anisotropie optique des molécules augmentait par suite de l'hydratation.

Or, nous venons de voir qu'entre 57° et 58° une modification

importante se produisait dans le sérum chauffé, puis dilué suffisamment avec H_2O pour que les globulines précipitent. Avant 57° elles se sédimentent; au-dessus de 58° elles restent en suspension. L'aspect de la solution est colloïdal, laiteux, mais avons-nous vraiment affaire à une solution qui atteint, entre 58° et 60° , un état de dispersion colloïdal? ou bien cet aspect, comme dans le cas du sérum pur, correspond-il à une hydratation de molécules indépendantes?

Il suffit de jeter un coup d'œil sur la figure 17 pour se rendre compte qu'aux températures voisines de 58° correspond une chute importante du facteur de dépolarisation que l'on peut vraisemblablement attribuer à la formation de granules colloïdaux isotropes. Nous n'avons jamais, dans le cas du sérum pur ou dilué de solution saline, observé de chute semblable. Mais, d'autre part, la valeur initiale du facteur ρ de la solution de sérum (non chauffé) est beaucoup plus haute que celle du sérum non dilué. On peut faire l'hypothèse que cette haute valeur est due aux modifications introduites dans l'anisotropie optique de la molécule par la dilution des sels.

De toutes façons, pour le sérum pur il n'y a pas diminution mais augmentation de cette anisotropie, c'est-à-dire que la solution n'est pas colloïdale, tandis que dans le cas de sérum dilué d'eau distillée la chute, parfois considérable, de la valeur de ρ peut s'expliquer par l'agrégation momentanée des particules.

Mais après qu'une certaine valeur minima de ρ est atteinte (au-dessous de 60° pour le sérum de cheval, au-dessus de 60° pour le bœuf et le chien) on observe un accroissement rapide et important de ρ . Il est très difficile d'interpréter ce phénomène, en raison de la double altération subie par les protéines du fait de la dilution d'une part, et de la haute température d'autre part. Albumines et globulines sont irrémédiablement dénaturées et probablement désintégrées.

CONCLUSIONS.

Quand on dilue du sérum non chauffé et chauffé avec de l'eau distillée, on constate, pour celui qui a été porté aux environs de la température critique, c'est-à-dire entre 55°

et 59°, suivant l'animal, une modification très nette de la dispersion des globulines précipitées qui, pour une différence de température de l'ordre de 1° (entre 57° et 58° par exemple) se manifeste par la stabilité de la suspension à 58° tandis qu'elles se sédimentent à 57°. La netteté du phénomène dépend entre autres facteurs du pH de la solution.

Il existe un point critique de stabilité qui se déplace vers les basses températures quand le temps de chauffage augmente : pour le cheval, il est par exemple à 58° pour un chauffage de cinq minutes et à 53° pour un chauffage de deux heures. L'action du temps de chauffage diminue très rapidement au-dessous de 55°.

Le facteur de dépolarisation du sérum dilué, élevé quand le sérum n'a pas été chauffé, diminue brusquement vers 55° pour atteindre une valeur minima vers 58° pour le cheval et vers 65° pour le chien et le bœuf, après quoi il remonte rapidement. La stabilité de la solution (sédimentation nulle ou très faible) semble correspondre à ce minimum, qui pourrait caractériser un état colloïdal de la suspension des globulines.

ÉTUDES SUR LA PESTE AVIAIRE D'ÉGYPTÉ

par E. LAGRANGE

Dans un mémoire précédent [13], nous avons brièvement exposé les caractères généraux d'une infection à virus filtrable des poules, qui sévit intensément en Égypte; nous avons décrit ses principaux symptômes et cherché à la différencier des autres infections analogues des volailles pour justifier le nom de pseudo-peste aviaire d'Égypte, ou plus simplement de peste aviaire d'Égypte que nous lui avons donné. On connaît actuellement plusieurs virus pestiques des volailles qui se distinguent soit par leurs caractères sérologiques, soit par les tropismes particuliers de leur virus, soit enfin par leur répartition géographique.

La peste aviaire, comme l'ont déjà signalé Schweitzer [30] et Todd [33], est un virus idéal pour l'étude des propriétés générales des infections à ultra-virus. Sa mortalité régulière et rapide est un facteur à considérer pour un travail où chaque fait doit être vérifié par la vie d'un animal neuf, et la poule offre, à ce point de vue, des avantages particuliers; elle est en même temps l'animal de la maladie naturelle et un excellent sujet d'expérience; elle n'est pas difficile à obtenir en bon état de santé et à un prix relativement bas. Enfin, le virus peut se conserver longtemps sans variations sensibles.

À part son intérêt local, la peste aviaire d'Égypte peut aider à compléter ce que nous savons déjà de la peste aviaire. La maladie étant endémique au moins six mois de l'année, nous sommes ici dans les meilleures conditions pour étudier le processus d'infection naturelle et l'épidémiologie.

Depuis mars 1928, nous nous sommes livré à des expériences de nature à élucider la nature de l'infection pestique et, en même temps, certains problèmes généraux de la théorie des ultra-virus. Plusieurs exposés particuliers ont déjà paru dans les années 1929, 1930 et 1931. Il convenait de grouper dans un mémoire d'ensemble le résultat de ces expériences et observa-

tions qui ont duré trois ans et consommé au total 1.000 poules et plus de 100 moineaux.

Pour ne pas allonger inutilement ce mémoire, nous ne reviendrons pas sur ce qui a été dit dans nos publications antérieures, sauf pour les compléter ou les regrouper.

A propos de la symptomatologie, notons ici la température. Elle se caractérise par une ascension rapide à 42-43°, suivie d'une chute à 35°, qui peut durer plusieurs jours dans les formes prolongées.

Comme lésions d'autopsie, la peste aviaire d'Egypte n'offre

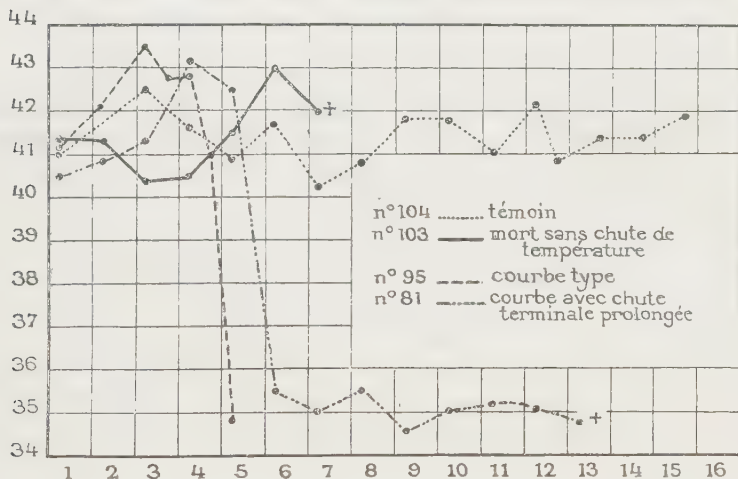


FIG. 1. — Courbes de température.

rien de bien particulier à distinguer de la peste aviaire vraie ; la coloration chocolat du foie est la lésion la plus constante. Puis viennent les lésions ovariennes déjà signalées par les premiers observateurs ; elles provoquent des hématomes de l'œuf en formation et de véritables péritonites ovariennes. Un détail, assez curieux cependant à noter, à propos du système génital : grâce à la durée plus longue de la peste aviaire d'Égypte, il peut arriver que la poule pondre un œuf pendant l'incubation de la maladie : il est très fréquent que l'œuf soit alors privé de sa coquille et simplement entouré du chorion. Ajoutons que, maintes fois, nous avons observé des morts par peste aviaire d'Égypte vérifiées par inoculation, sans aucune lésion macroscopique.

Nous étudierons successivement en quatre chapitres distincts :

1. Les propriétés du virus et l'allure générale de l'infection ;
2. L'immunité ;
3. L'auto-stérilisation ;
4. L'épidémiologie.

CHAPITRE PREMIER

PROPRIÉTÉS DU VIRUS ET ALLURE GÉNÉRALE DE L'INFECTION

Le virus de la peste aviaire d'Egypte se présente dans les différents organes sous des formes diverses [16] ; il convient donc de spécifier sous quelle forme le virus étudié a été pris ; on peut prendre pour type le virus de sang frais, régulièrement virulent, qu'il est facile d'obtenir stérilement par ponction cardiaque après la mort, et de filtrer. A noter que le sang de la poule infectée est extrêmement coagulable et se coagule même en milieu citraté ou oxalaté.

I. — Durée de conservation du virus-sang.

Conservé à la glacière en ampoules scellées, mélangé en parties égales avec du liquide physiologique oxalaté ou citraté de 1/100 à 1/1.000, le virus se conserve plus de vingt-cinq mois en donnant la mort dans des délais sensiblement normaux.

Virus n° 28 conservé du 17 décembre 1928 au 19 novembre 1929 ; 0 c. c. 1 en injection intra-musculaire tue en quatre jours.

Virus n° 20 conservé du 7 décembre 1928 au 28 septembre 1929 ; 0 c. c. 1 en injection intra-musculaire tue en cinq jours.

Virus n° 20 conservé du 7 décembre 1928 au 19 janvier 1931 ; 0 c. c. 1 en injection sous-cutanée tue en quatre jours.

Il en est de même du jaune d'œuf prélevé dans l'abdomen à l'autopsie et conservé pur en ampoules.

Mais la température de la glacière est essentielle à la conservation.

Le virus vieilli diffère du virus frais par les points suivants :

Le virus frais traverse les muqueuses saines (soit la conjonctive, soit la muqueuse cloacale); après plusieurs mois de conservation, le virus a perdu ce pouvoir de pénétration.

Le virus frais de sang ou d'excreta dilué au 1/50 et filtré sur bougie L1 ou L3 est virulent; mais ce liquide filtré, conservé à l'abri de toute contamination, perd sa virulence en quelques semaines.

De même, le sang filtré vieux n'est plus virulent.

Enfin, à l'inverse du sang frais, le sang vieux ne résiste pas à un chauffage à 56°.

Mucus nasal filtré + fientes filtrées virulentes le 10 janvier 1929 ne tuent plus le 14 février.

Fientes filtrées le 9 mars 1929 sur bougie L3 (virulentes) ne tuent plus après huit mois de glacière en novembre 1929.

II. — Action de divers agents physiques et chimiques.

A. — CHALEUR HUMIDE.

Le virus-sang frais résiste à un chauffage de quarante-cinq minutes à 57°.

Sang du n° 272 au 57° frais, dilué au 1/20, chauffé trois quarts d'heure au bain-marie le 3 janvier 1930, injecté à la dose de 1 cent. cube, tue en quatre jours;

Sang du n° 20 du 10 janvier 1929, dilué au 1/20, chauffé dans le même bain-marie à côté du précédent, ne tue plus, alors que, non chauffé, il tue à la même dose en cinq jours (1).

Un chauffage d'une demi-heure à 65° tue le virus.

B. — CHALEUR SÈCHE ET DESICCATION.

La pulpe d'organe broyé est étalée dans un exsiccateur au Cl²Ca anhydre à l'étuve à 37°. A divers intervalles, un fragment desséché est émulsionné dans de l'eau physiologique et inoculé à un animal sain. Progressivement, la mort est

(1) Les injections d'épreuve sont, pour le sang, de 1/20 à 1/200 de centimètre cube pour les émulsions d'organes, 1 cent. cube d'émulsion du 1/10 au 1/20 environ, à moins d'indication contraire.

retardée et, après une dessiccation suffisamment prolongée, l'inoculation est inoffensive. Au passage suivant, la virulence revient à la normale.

Cerveau du n° 3, traité comme ci-dessus le 12 novembre 1928 :

Un fragment injecté après deux jours à n° 10; mort le dixième jour;

Un fragment injecté après quatre jours à n° 11; mort le douzième jour;

Un fragment injecté après six jours à n° 13; mort le treizième jour;

Un fragment injecté après quatorze jours à n° 15; résiste.

Toutefois, cette série donne des résultats plus retardés qu'habituellement : généralement, le virus desséché deux jours tue en cinq à sept jours; le virus devient inoffensif après des durées de séjour à l'étuve à 37° variant de cinq à huit jours.

Ajoutons que le virus des excreta abandonnés dans les cages à l'air, même à l'abri de la lumière vive, se détruit rapidement.

C. — DESSICCATION A FROID.

Laissons tomber par gouttes du sang frais dans une boîte de Petri; celle-ci est mise dans l'exsiccateur à la glacière. Dès le lendemain, les gouttes sont devenues autant de paillettes qui se décollent facilement. Après vingt jours à la glacière, une goutte tue dans les délais normaux; après quarante jours elle ne tue plus. La dessiccation à froid ne constitue donc pas un procédé intéressant de conservation du virus de la peste aviaire d'Égypte.

D. — GLYCÉRINE.

Pour la conservation du virus des organes, il est essentiel de connaître le pouvoir de conservation de la glycérine. Nous nous sommes servi de la glycérine diluée d'eau à volume égal. Ce mélange détruit le pouvoir pathogène du virus en moins de quatre mois à la glacière.

Virus (rate et cerveau de maladie naturelle) du 19 janvier 1929 :

Après vingt jours en glacière tue en sept jours;

Après cinquante jours en glacière tue en huit jours;

Après quatre mois en glacière ne tue plus.

A 37°, les émulsions glycinées perdent leur virulence en six jours.

E. — ACIDE PHÉNIQUE.

Employé en solution à 1 p. 100, l'acide phénique exalte d'abord la virulence, puis détruit le virus. Le virus exalté se maintient exalté pendant un à deux passages, puis progressivement revient à la normale.

Virus-cerveau d'infection naturelle à raison de 100 cent. cubes pour un cerveau conservé à la glacière et injecté à la dose de 1 cent. cube sous-cutané, 15 mai 1929.

Après quatre jours tue en moins de trois jours;

Après dix jours tue en moins de trois jours;

Après vingt-huit jours tue en moins de quatre jours;

Après cinquante jours ne tue plus.

Même après deux injections intramusculaires, le virus-cerveau phéniqué ne vaccine pas.

F. — FLUORURE DE SODIUM.

Dilué à 1 p. 100, le fluorure de sodium détruit le virus en moins de un mois et ne semble pas intéressant pour la préparation de virus atténués.

Un cerveau virulent, émulsionné dans 100 cent. cubes de NaFl à 1 p. 100 et conservé à la glacière, le 16 avril 1929 :

Après dix jours tue en quatre jours.

Après trente jours ne tue plus.

Deux injections intramusculaires à six jours d'intervalle après atténuation suffisante ne vaccinent pas.

G. — FORMOL.

Une solution de formol à 5 p. 1.000 détruit la virulence du virus en moins de quarante-huit heures à 37°.

III. — Voies d'inoculation et répartition du virus dans l'organisme.

D'une façon générale, le sang virulent frais prend par toutes les voies : voie sous-cutanée, voie musculaire, cérébrale, ingestion, dépôt sur la conjonctive, sur les narines, la peau.

sur la muqueuse du cloaque, à doses très faibles et tue en un délai moyen de quatre à cinq jours.

On peut en dire autant du virus de tous les organes sous les réserves suivantes :

1° La voie musculaire (dans le pectoral), d'abord fréquemment employée avec le virus-cerveau, est à déconseiller (pour le cerveau seulement) à cause des accidents fréquents qu'elle provoque : environ une minute après l'inoculation d'émulsion cérébrale, il arrive dans 10 à 20 p. 100 des cas que l'animal est pris de violentes convulsions et meurt immédiatement.

Ces accidents sont identiques à ceux que T. M. Doyle a observés dans la maladie de Newcastle par injection intraveineuse de matière cérébrale. Il cite les expériences de Hyde et Parsons [8] qui ont étudié systématiquement l'injection intraveineuse de tissu nerveux. Nous avons fait à ce sujet des expériences confirmatives sur le rat. Cependant, nous hésitons à attribuer cet effet de l'injection intramusculaire à une entrée accidentelle dans une veine.

2° Par ponction à la punaise, il est facile de perforer la paroi crânienne sans provoquer de réaction de la poule, et on peut injecter 0 c.c. 05 à 0 c.c. 1 de produit virulent, sang ou matière cérébrale. Au bout de dix à vingt heures, les réactions deviennent moins vives, l'animal est comme engourdi, bientôt l'attitude caractéristique apparaît et l'animal meurt habituellement en moins de quarante-huit heures. Il ne semble pas s'agir ici d'une exaltation de virulence, mais d'une pénétration plus rapide du virus dans les centres nerveux, qui sont les plus sensibles à son attaque mais les mieux protégés contre son invasion. Nous y reviendrons tout à l'heure. D'ailleurs, au bout d'un ou deux passages, la virulence du germe introduit par la voie sous-cutanée redevient définitivement normale.

Songeant à provoquer une infection autostérilisable, nous avons réalisé la série suivante par injection de cerveau à cerveau, en prenant toujours soin de prélever un fragment de l'hémisphère opposé à celui de la piqûre.

Cerveau injecté dans le muscle de :

72 → 77 → 83 (intramusculaire) à → 86 → 91 → 92 → 96 → 97 → 99

Avec durée de maladie de :

+ 3j. + 34h. \pm 40h.

3j. 26h. \pm 56h. — de 22h. \pm 40h. 38h.

Le virus diffuse hors des centres nerveux dans tout l'organisme.

Le sang de 91, prélevé au cœur *post mortem*, tue la poule 94 en deux jours par voie intramusculaire ; les fientes de 91 sont également virulentes : après dilution au 1/50^e et alcalinisation, le filtrat sur L3 tue 93 en sept jours à la dose de 2 cent. cubes.

3^o Le vieillissement du sang à la glacière n'empêche pas l'action de l'injection ni de la friction sur la peau, mais rend l'ingestion et le dépôt sur les muqueuses inoffensifs.

4^o Le virus des divers organes se différencie du virus sang par les points suivants. L'injection de tissu musculaire tue en moins de deux jours ; l'ingestion est absolument inoffensive. Au passage suivant, le virus tue dans les délais normaux.

La bile est régulièrement avirulente, ce qui ne cadre pas avec les données classiques (v. Gerlach) [5].

Le poumon est parfois avirulent tant par ingestion que par injection musculaire.

La poule 59 mange un poumon de 53 et résiste (le sang de 53 est virulent).

La poule 58 reçoit en injection intramusculaire l'autre poumon et résiste.

Les 2 poules sur 10 examinées, dont les poumons étaient avirulents, étaient mortes d'infection naturelle confirmée.

5^o La filtration sur bougie L1 ou L3 du sang prélevé au cœur et du liquide d'œdème de la tête laisse passer un liquide virulent par injection mais avirulent par ingestion. Mais la filtration des organes ne laisse passer aucun élément infectieux. Pourtant, ces organes sont souvent gorgés de sang. Nous avons employé divers artifices pour modifier ce résultat, par exemple la dilution en bouillon, l'alcalinisation du milieu, l'agitation avec 10 p. 100 d'éther ou de chloroforme après dilution au 1/100 ; en vain. A noter que, quand elle agit, l'injection de produits filtrés tue généralement après sept ou huit jours seulement.

6^o A un point de vue général, il en résulte que la peste aviaire d'Egypte est une septicémie dont le virus très diffusible peut pénétrer par toutes les voies. Mais faut-il se figurer ce virus comme indifféremment répandu sous une forme identique ? Les faits qui précèdent prouvent qu'il n'en est rien, et il est probable que le virus a une morphologie différente dans divers organes [16].

IV. — Dose mortelle.

Nous avons antérieurement affirmé que la dose mortelle n'atteignait pas $1/500$ de centimètre cube. Mais ce chiffre n'a plus été retrouvé. Des mesures ultérieures nous ont montré qu'elle est essentiellement variable, généralement $1/5.000$, rarement $1/10.000$ et qu'elle n'atteint jamais le $1/25.000$, sous réserve de la variation du virus qui sera signalée tout à l'heure. La dose injectée n'influe guère sur la vitesse d'évolution de l'infection. Ces chiffres s'entendent pour une injection poussée dans le muscle pectoral, le sang étant dilué et injecté par 1 cent. cube.

V. — Essais de culture du virus.

Les échecs presque constants que rencontre l'expérimentateur cherchant à cultiver les virus invisibles sur des milieux non vivants n'encouragent guère à tenter de nouveaux essais. Cependant, nous avons cherché à profiter de l'affinité toute particulière du virus pestique pour le jaune d'œuf pour inoculer soit des œufs frais de poules saines, soit des tubes de jaune d'œuf. Tous ces essais ont été négatifs. Tant que le jaune est en voie de multiplication dans les voies génitales de la poule infectée, le virus s'y concentre; dès qu'il est au contact d'un jaune au repos, la multiplication du virus s'arrête.

VI. — Transmission aux espèces sensibles.

Les petits mammifères de laboratoire essayés par n'importe quelle voie sont absolument réfractaires au virus. De même les canards, canards de Barbarie, pigeons et oies. Seul, des oiseaux faciles à se procurer, le moineau est sensible au virus et fait une maladie caractérisée. Dans l'espoir de nous procurer à bon marché des oiseaux peu encombrants — avantages sérieux pour un laboratoire à crédits limités — nous avons insisté sur son emploi pour y renoncer bientôt.

Les symptômes diffèrent assez de ceux de la poule ; l'animal hérisse ses plumes, dort, puis brusquement, vingt-quatre à quarante-huit heures après, tombe en avant, la tête en extension, la respiration superficielle et rapide, meurt en quelques minutes. La diarrhée est inconstante ; jamais l'oiseau ne présente la perte d'équilibre ressemblant à la paralysie comme la poule. L'appétit ne disparaît pas, il n'est pas rare de voir le moineau mort avec un grain de sorgho dans le bec. Dans les formes durant trois à quatre jours, l'oiseau présente une attitude très caractéristique : il relève la tête et fait des sauts périlleux en arrière presque continus, soit en un temps, soit en deux temps, avec arrêt au plafond de sa cage.

La mort arrive généralement de deux ou trois jours après l'inoculation ; elle peut ne se produire parfois qu'au bout de cinq à six jours.

Après deux et quatre passages de moineau à moineau par inoculation musculaire de sang, la poule reprend le virus qui tue dans les mêmes conditions qu'avant ces passages.

Les matières diarrhéiques ne sont pas virulentes.

L'infection retardée par l'atténuation du cerveau de poule a pu être reproduite chez le moineau. A première vue, ces conditions paraissent intéressantes pour utiliser le moineau à des expériences sur la peste aviaire. Mais il n'en est rien.

Le moineau se plie difficilement à la captivité ; nous l'avons accoutumé en laissant les cages en plein air, les moineaux étant mis autant que possible seuls ou au maximum par deux. Malgré cela, il arrive que des témoins meurent de mort naturelle (l'inoculation à la poule prouve l'absence de peste aviaire, dans les mêmes délais que les animaux d'expérience, obligeant à des vérifications sur la poule ou à des répétitions nombreuses avec interprétation de résultats incertains.

D'autre part, le moineau ne prend pas à tout coup et même il guérit de la maladie déclarée. Enfin, fait remarquable, les conditions déjà peu intéressantes à la saison froide (janvier et février) deviennent parfaitement insuffisantes dès le printemps. A Suez, dès mars, le moineau ne meurt qu'irrégulièrement, sinon exceptionnellement de peste aviaire expérimentale.

En mai 1930, une oie s'est envolée d'une basse-cour voisine et s'est introduite dans la nôtre. Après quelques jours, où elle

errait en liberté, elle a présenté des symptômes nerveux rappelant nettement la peste aviaire : tournis continu, puis déséquilibre et parésie des pattes. L'oie est sacrifiée *in extremis*. Le cerveau inoculé à une poule la tue en six jours avec symptômes typiques de peste aviaire. Une nouvelle oie achetée à ce moment résiste successivement à l'ingestion d'un foie entier de poule, à une friction de sang pur sur la peau de la face interne de l'aile et à l'inoculation sous la peau d'une forte dose du cerveau de l'oie morte.

La peste aviaire d'Egypte peut donc tuer l'oie adulte, mais nous n'avons pu la transmettre expérimentalement à l'oie même en partant d'une oie infectée. Des circonstances de cette expérience, il semble résulter que cette oie ne s'est pas infectée en circulant en liberté dans la cour du laboratoire, mais qu'elle avait constaté une infection que nous n'avons pu reproduire expérimentalement.

En septembre 1930, nous avons pu également infecter la caille, mais les cailles séjournant dans la même cage ne se sont pas infectées par voisinage.

VII. — Pathogénie.

Nous avons vu antérieurement que la peste aviaire d'Egypte comporte après l'incubation deux phases bien nettes : une première septicémique, où les symptômes sont principalement d'ordre digestif et respiratoire et où le virus existe dans le sang, et une deuxième où apparaissent des symptômes nerveux avec perte de l'équilibre ou sommeil progressif.

C'est cette observation qui nous a éclairé sur la manière d'entreprendre la vaccination; elle nous a conduit, d'autre part, à faire les essais suivants sur la diffusion progressive du virus dans l'organisme.

Injectons à 2 poules $1/20$ de centimètre cube de sang virulent dans le pectoral; après quarante-huit heures, ces poules ont de la diarrhée et ne mangent plus; mais l'œil est vif, les mouvements saccadés comme à l'état normal; le système nerveux ne paraît pas touché, et ne manifestera son atteinte que vingt à trente heures plus tard. Prélevons sur l'une d'elles, du

sang du cœur, un fragment de foie et d'encéphale et injectons-les à 3 poules neuves. Le sang et le foie sont virulents, l'encéphale ne l'est pas. Après soixante-douze heures, opérons de même sur la deuxième poule; à ce moment, elle a pris une attitude de malade qui rappelle la silhouette de pintade, tête rentrée dans les épaules, queue basse, mouvements lents et rares; l'atteinte du système nerveux est manifeste et *l'injection d'encéphale est positive*.

Au cours de ces essais, nous avons injecté le 28 février 1929 les organes d'une poule C malade spontanément, infectée depuis environ quarante-huit heures et dont le système nerveux paraissait indemne. Le sang à la dose de 0,05 tue en six jours, le foie tue en trois jours; l'encéphale est injecté à 81. Le 4 mars, diarrhée brune; le 6 mars, elle présente un tournis singulier, le cou tordu à droite et tendu en haut, la tête est comme entraînée à droite et le corps suit le mouvement de torsion; elle tourne ainsi toute la journée et, le soir, elle arrive à s'appuyer contre la paroi de sa cage et à s'arrêter; le 7 mars, le mouvement repart plus lentement toute la journée; le 8 mars, le mouvement est arrêté, les plumes hérissées, la poule dort debout; le 10, elle mange et va mieux; le 12 au matin, elle est trouvée morte; depuis le 7, la température s'est maintenue aux environs de 35°.

A l'autopsie, foie avec de gros foyers jaune-clair, ramollis et stériles.

Encéphale virulent (tue en 12 jours). Cette forme atypique n'a pu être reproduite et ne s'est reproduite par hasard que deux fois au cours de nos recherches.

L'invasion du névraxe est donc tardive et postérieure à celle des autres organes. Ceci peut d'ailleurs s'expliquer par une résistance à l'entrée, autrement dit par la difficulté pour le virus à franchir la barrière hémato-encéphalique. En tout cas, l'attaque du système nerveux est le prélude de la mort.

Faut-il en conclure que le virus est neurotrope, en se basant sur la gravité des phénomènes nerveux, ou conclure qu'il ne l'est pas, à cause de la résistance prolongée du tissu nerveux?

Rappelons ici les expériences citées plus haut sur l'effet des inoculations intracrâniennes qui déterminent la deuxième phase à bref délai et la mort en moins de quarante-huit heures. Ces expériences confirment les précédentes. Il est intéressant de constater que le virus, même dans ces dernières conditions, diffuse dans toute l'économie.

A la suite de ces expériences, ainsi que de celles qui vont suivre, nous considérons la peste aviaire d'Égypte comme une septicémie avec infection du système nerveux; l'élimination se faisant par les voies respiratoires supérieures et digestives.

CHAPITRE II

IMMUNITÉ

L'immunité naturelle contre la peste aviaire n'existe pratiquement pas chez la poule et (étant donné la gravité de l'infection), l'immunité acquise par une première infection est rarissime.

Constatant l'importance des phénomènes nerveux dans l'évolution de la peste aviaire d'Égypte, nous avons essayé de vacciner avec un virus atténué : le cerveau desséché à 37°; c'est à peu près l'idée qui était venue à Kraus et Schiffmann [12] en constatant que la jeune oie faisait une peste aviaire à évolution plus longue que celle de la poule.

Comme il a été dit plus haut, un séjour plus ou moins long du virus au dessiccateur à 37° prolonge l'incubation de la maladie; en général, au delà de huit jours de dessiccation, le virus ne tue plus la poule. Mais une injection de ce virus-cerveau atténué ne protège pas contre l'administration de virus (1). Par contre, si on essaie d'injecter ensuite un virus desséché trois à six jours à 37°, la poule reste indemne et résiste ultérieurement à l'injection même intracérébrale de virus frais. Encore faut-il que ce vaccin soit injecté dans le muscle.

La poule n° 22 reçoit le 17 décembre 1928 un peu d'émulsion de cerveau virulent broyé et desséché huit jours à 37°. Dix jours plus tard, elle reçoit de l'émulsion d'un cerveau desséché trois jours à 37°. Le 3 janvier 1929, elle

(1) Pour les épreuves d'immunité employées ici et au chapitre IV, nous avons employé divers modes d'introduction du virus :

1° L'ingestion. Cette voie est très sûre chez les poules neuves; elle est cependant la plus bénigne, même quand on inocule de grosses doses;

2° La contagion. A condition que plusieurs poules soient réunies, cette épreuve est parfaitement sûre et plus sévère que la précédente;

3° L'inoculation, dont la gravité dépend de la dose injectée; elle se fait généralement par voie sous-cutanée ou intramusculaire; les poules solidement immunisées résistent parfaitement à l'inoculation intracérébrale;

4° La friction de virus sur la peau nue, par exemple à la face interne de l'aile, même avec un virus légèrement dilué; cette épreuve semble être de beaucoup la plus redoutable, avec le dépôt de virus sur le cloaque qui est également très dangereux.

Le plus souvent, ce sont l'ingestion ou la contagion qui ont été employées, eu égard au fait qu'elles sont des modes possibles d'infection naturelle.

est mise au contact d'une poule malade et résiste; le 26 janvier 1929, elle reçoit une injection intramusculaire de rate virulente et résiste.

Cette poule a été la première vaccinée avec du cerveau virulent; les autres poules de cette série ont été inoculées avec des cerveaux autostérilisés, ce qui sera rapporté plus loin; il est à noter que les poules vaccinées par ce procédé ne montrent aucun symptôme à l'injection d'épreuve. Elles sont solidement immunisées d'emblée. Mais certains lots échouent complètement.

I. — Mécanisme de l'immunisation.

1° Si l'on injecte à une poule neuve du virus-cerveau atténué par dessiccation pendant deux à quatre jours, elle meurt à retardement; tous les organes sont virulents et le passage sur une deuxième poule tue dans les délais normaux. Cependant, le foie (c'est le hasard qui nous l'a appris) est avirulent par ingestion (bien que virulent par injection); il a la couleur brun clair du foie sain, très différente de la couleur lie de vin habituelle des infections normales (il ne s'agit donc pas d'une auto-stérilisation, comme nous l'avons prétendu par erreur dans une note précédente [15], mais d'une modification de la forme du virus).

Les formes virulentes par ingestion sont absentes du foie chez l'animal mort d'injection de virus-cerveau atténué.

La poule n° 344 a reçu du vaccin desséché trois jours; elle est malade le 12 mars 1930 et sacrifiée *in extremis*. Le foie est brun clair, apparemment indemne. N° 355 mange la moitié du foie et résiste. N° 359 reçoit une injection d'émulsion de foie et meurt en quatre jours.

2° Ayant constaté, à plusieurs reprises, des morts foudroyantes une à deux minutes après l'injection de cerveau dans le muscle, nous avons voulu produire la vaccination par injection sous-cutanée. Cette voie d'entrée ne provoque jamais la mort subite, mais ne vaccine pas.

3° La résistance du virus à la dessiccation à 37° est variable. Du virus type (tuant en cinq jours) a été régulièrement détruit après six jours d'étuve pendant la saison d'hiver 1928-1929; en 1930, il a fallu huit jours et plus pour qu'il devint inoffensif;

de même, la deuxième injection pouvait en 1929 se faire après trois jours d'étuve; en 1930, après quatre jours de dessiccation (succédant à une première injection de virus desséché neuf jours) ce virus donnait encore une atteinte sérieuse et parfois mortelle.

Ces deux inconvénients réduisent gravement la portée pratique de ce procédé de vaccination, d'ailleurs très efficace quand il réussit.

4° Dans les infections retardées par injection de virus atténué, c'est l'incubation qui paraît prolongée. Nous nous sommes demandé où le virus est arrêté avant d'atteindre le cerveau, mais nous n'avons pu le vérifier par l'expérience. Un virus desséché sept jours et rendu inoffensif par voie musculaire ou sous-cutanée est également bien supporté directement dans le cerveau. Il semble en résulter que l'immunité du cerveau et sans doute aussi des autres organes dérive d'une réaction généralisée. Mais quelles sont les modifications du virus, quel est le mécanisme précis de l'immunisation, ce serait se lancer dans de vaines hypothèses que de vouloir y répondre pour l'instant.

II. — Spécificité de la propriété vaccinante.

Le virus étant répandu dans toute l'économie, il paraît à première vue que la vaccination pourra être obtenue en desséchant l'un ou l'autre organe.

Le 7 mars 1929, le n° 89 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de foie desséché huit jours à 37°.

Le 12 mars 1929, il reçoit 1 cent. cube d'émulsion de foie desséché quatre jours à 37°.

Le 19 mars 1929, le n° 89 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de foie desséché deux jours à 37°.

Le 23 mars 1929, il prend une attitude suspecte, diarrhée; le 25 mars, mort.

Le 16 avril 1929, le n° 127 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de rate desséchée sept jours à 37°.

Le 23 avril 1929, il reçoit 1 cent. cube d'émulsion de rate desséchée trois jours à 37°.

Le 29 avril 1929, il reçoit 1 cent. cube d'émulsion de rate desséchée un jour à 37°.

Le 5 mai 1929, il est malade et meurt le 8 mai.

Ces expériences, prises à titre d'exemple, montrent que ni le foie ni la rate ne présentent de pouvoir vaccinant, lorsqu'ils sont préparés par dessiccation dans les mêmes conditions que le cerveau. Au contraire, le jaune d'œuf prélevé dans l'abdomen de la poule morte ou le testicule protégent au même titre que le cerveau.

Le 20 avril 1929, n° 133 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de jaune d'œuf intra-abdominal desséché six jours à 37°.

Le 23 avril 1929, il reçoit 1 cent. cube d'émulsion de jaune d'œuf intra-abdominal desséché quatre jours à 37°.

Le 29 avril 1929, le n° 133 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de jaune d'œuf intra-abdominal desséché deux jours à 37°.

Résiste à des contagions répétées. Sacrifiée le 21 mai en bonne santé (v. p. loin).

Le 8 mai 1929, la poule 151 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de testicule de coq desséché sept jours à 37°.

Le 12 mai 1929, la poule 151 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de testicule de coq desséché quatre jours à 37°.

Le 28 mai 1929, ayant résisté, elle est mise en volière avec plusieurs poules qui meurent et elle résiste encore; sacrifiée le 17 juin, en bonne santé (v. p. loin).

Chemin faisant, on a remarqué que le foie desséché tue à retardement comme le cerveau. Mais chez la poule morte dans ces conditions, le foie est virulent par ingestion, contrairement à ce que nous avons vu dans l'infection retardée consécutive à une injection de cerveau atténué.

Ainsi, les principaux viscères contenant le virus tuent; ils tuent à retardement après une dessiccation modérée. Après une dessiccation prolongée, seuls le cerveau, le testicule et les œufs infectés *in utero* confèrent une protection nette. On ne peut s'empêcher de rapprocher cette action vaccinnante des propriétés chimiques communes à ces trois organes. Les uns et les autres sont riches en substances grasses et en nucléoprotéides. Peut-être est-ce à la combinaison du virus avec l'une ou l'autre de ces substances qu'il faut attribuer les propriétés spéciales du virus desséché. Il est intéressant de rapprocher cette constatation de celle de W. Picard (de Java) [29] qui dans la pseudo- peste aviaire ne trouve le virus que dans le cerveau et le jaune d'œuf à l'exclusion des autres organes.

Bien qu'on soit dans l'ignorance la plus complète des rapports qui s'établissent entre les organes et les ultra-virus,

on peut admettre que, d'une façon générale, ceux-ci s'incorporent dans ceux-là et deviennent partie intégrante de la cellule; ce qui le confirme, c'est que autant la culture du tissu rend facile la culture du virus, autant celle-ci est difficile sinon impossible en l'absence de cellules vivantes. On sait d'autre part que, dans la peste aviaire, ce sont les lésions du système nerveux et celles de l'appareil ovarien qui sont les plus marquées et les plus flagrantes. Le rapprochement s'impose.

S'il est permis de comparer ce qui se produit ici avec les résultats analogues obtenus dans d'autres infections septicémiques à ultravirus, il est suggestif de rappeler les résultats obtenus par Jacotot [41] dans la vaccination contre la peste bovine (infection des poumons et du système lymphatique) avec les ganglions, la rate et le poumon d'animaux infectés et par Hindle [4] qui obtient l'immunisation dans la fièvre jaune avec le foie et la rate traités de façon convenable à l'exclusion du cerveau, des reins et des ganglions lymphatiques. On aboutit ainsi à une spécificité tissulaire du vaccin à mettre en parallèle avec la spécificité tissulaire du virus, d'autant plus inattendue que les infections considérées ici sont de vraies septicémies.

Il est vraisemblable que cette spécificité vaccinale n'est pas limitée à ces trois infections et qu'elle relève d'une loi générale.

D'autres auteurs cependant ont obtenu l'immunité active par injection d'organes atténués chimiquement sans remarquer cette spécificité, par exemple Staub [31] avec son vaccin formolé de rate et Todd [34] avec son vaccin phénolé glycérolé de foie. Les résultats de Staub ayant été contestés par Todd, nous avons été amené à voir ce qu'ils donneraient avec notre virus.

Rate et cerveau infectieux sont respectivement émulsionnés dans 400 ou 25 cent. cubes d'une solution de formol à 1/2 p. 100. Nous avons obtenu l'immunité dans nombre de cas, pas cependant d'une façon régulière, avec deux injections successives, le cerveau ne présentant ici aucune supériorité sur la rate au point de vue de l'immunité acquise. Dans 2 cas, nous avons obtenu, après deux injections de l'émulsion au 1/100, des infections suivies de guérison.

A ce propos, de même que nous n'avons pas cru devoir con-

clure à l'existence de « formes » spéciales de virus dans le cerveau, le testicule ou le jaune d'œuf, de même nous ne croyons pas qu'il faille distinguer les formes du foie et de la rate, parce que ces deux organes, comme l'a très bien fait remarquer Staub [32], ne produisent pas de vaccin de la même manière après traitement au formol (1). Sans doute faut-il expliquer les différences du pouvoir antigène observées par Staub et par nous-même par les propriétés du milieu organique.

III. — Pouvoir stabilisant de la glycérine.

Nous avons vu plus haut que la glycérine atténue très lentement le virus et ne peut être un milieu de conservation intéressant pour les organes infectieux. Après quatre mois de glacière, le cerveau virulent conservé en glycérine immunise. Les voies sous-cutanée et musculaire réussissent toutes deux, mais irrégulièrement.

Le n° 170 reçoit, le 5 et le 17 juin 1929, 0 c. c. 5 d'émulsion de cerveau du 19 janvier 1929.

Résiste ensuite à plusieurs épreuves mortelles.

Si on conserve le virus glycériné à 37°, on obtient sa dégradation en six jours. Reprenant ensuite la technique employée plus haut du vaccin desséché, nous injectons une première dose de virus laissé six jours à 37°.

Une seconde injection, à quelques jours d'intervalle, de cerveau chauffé trois à quatre jours seulement (et que ne supporterait pas un animal neuf) est parfaitement tolérée.

Le dosage d'émulsions préparées à l'avance est beaucoup plus facile que celui d'organes desséchés; d'autre part, l'émulsion glycérinée passant à la glacière se conserve ensuite un certain temps sans se modifier.

A ces avantages s'en ajoutent deux autres : l'injection agit par voie sous-cutanée et la rate agit comme le cerveau. A condition d'être judicieusement dosé, ce procédé nous a paru le

(1) C'est au contraire le foie qu'emploie Ch. Todd pour son vaccin phénolé glycériné. Il est possible que la différence de souche suffise à expliquer cette différence de résultat.

plus régulier de ceux que nous venons de passer en revue. Le foie ne nous a donné que des échecs.

IMMUNITÉ « IN VITRO ».

Il est intéressant d'éclairer les résultats obtenus dans l'immunité active *in vivo* par les actions qui se produisent *in vitro* par contact entre le virus et les organes d'animaux sensibles, d'animaux immunisés artificiellement et d'animaux possédant l'immunité naturelle. Ce n'est d'ailleurs que par convention qu'on peut parler d'immunité *in vitro*, tous les résultats devant se traduire par une inoculation à l'animal.

Nos essais relatifs aux animaux vaccinés et ayant résisté à des épreuves mortelles sérieuses devraient être tous à revoir à la lumière des faits qui seront étudiés plus tard au Chapitre III sous la rubrique des auto-stérilisations non mortelles. Mais déjà l'irrégularité des résultats obtenus avec des organes de poules neuves nous a découragé de reprendre ces recherches coûteuses après avoir eu connaissance des données rencontrées plus tard.

Nous prélevons du sang de poules venant de mourir et le mélangeons avec des émulsions finement broyées, mais épaisses, de divers organes d'un animal neuf, immunisé ou réfractaire, tué aussitôt avant. Le mélange est complété à 2 cent. cubes avec de l'eau physiologique et mis après agitation à l'étuve à 37° pour deux à trois heures. Après contact, on peut, par une brève centrifugation, séparer culot et liquide surnageant. Les résultats obtenus *très irréguliers*, même toutes conditions apparemment égales d'ailleurs, peuvent se résumer de la manière suivante :

De faibles doses de virus-sang ($1/500$ de centimètre cube) *peuvent* être neutralisées ou détruites par le contact avec le sang, le cerveau, le foie, la rate ou le testicule d'animaux neufs.

Chez des animaux immunisés, la neutralisation *peut* aller jusqu'au $1/40$ de centimètre cube. Dans une proportion intéressante des cas, l'animal qui succombe à l'injection peut présenter l'auto-stérilisation.

L'injection de ces mélanges virus-organes ne confère en aucun cas l'immunité.

Organes de poule 151, immunisée par testicule desséché (v. plus haut). Ayant résisté à une épidémie provoquée en volière au début du mois, elle est sacrifiée le 17 juin 1929. Le cerveau seul n'a pas été essayé.

Cerveau + 1/40 cent. cube de virus 126 + eau pour faire 2 cent. cubes.	Mélanges mis à 37° pendant 2 h. 1/2	inoculés à	$\left\{ \begin{array}{l} 161 \\ 195 \\ 177 \end{array} \right\}$	résistent et meurent plus tard après épreuve mortelle.
Jaune d'œuf + 1/40 cent. cube de virus 126 + eau pour faire 2 cent. cubes.				
Sang 0,5 + 1/40 cent. cube de virus 126 + eau pour faire 2 cent. cubes.				

Organes de n° 128 immunisée (v. plus loin), sacrifiée le 6 juin 1929, après nouvelle épreuve de contagion. Le cerveau, injecté seul, est immunisant.

Cerveau + 1/50 cent. cube de virus 152 + eau pour faire 2 cent. cubes.	Mélanges mis à 37° pendant 2 h.	inoculés à	$\left\{ \begin{array}{l} 173 \text{ mort en 5 j., tous} \\ \text{les organes virulents.} \\ 174 \text{ mort en 4 j., cerveau} \\ \text{virulent.} \\ 175 \text{ résistent, mais} \\ 176 \text{ non immunisés} \\ 177 \text{ ne résistent pas} \\ \text{à une nouvelle} \\ \text{épreuve.} \end{array} \right\}$
Foie + 1/50 cent. cube de virus 152 + eau pour faire 2 cent. cubes.			
Rate + 1/50 cent. cube de virus 152 + eau pour faire 2 cent. cubes.			
Jaune d'œuf + 1/50 cent. cube de virus 152 + eau pour faire 2 cent. cubes.			
Sérum 0,5 + 1/50 cent. cube de virus 152 + eau pour faire 2 cent. cubes.			

Nous avons parlé plus haut d'immunité active; il serait peut-être plus exact de parler de vaccination préventive. Il est évident que la vaccination décrite plus haut par des virus desséchés ou glycélinés à 37° est une immunisation active, assez comparable à la vaccination antirabique par virus vivants à virulence croissante.

Dans le procédé au formol de Staub, l'auteur lui-même nous apprend que les injections de virus formolé doivent être suivies à court terme d'une inoculation de virus frais pour immuniser définitivement. Dans maint autre essai, dont il serait trop long de faire mention, étant donné leur médiocre résultat, nous avons obtenu des immunités transitoires contre de simples repas virulents. Le succès de l'anatoxine de Ramon a naturellement poussé nombre d'auteurs à chercher dans la

même voie pour divers virus. Or, non seulement l'anatoxine n'est pas un simple produit formolé, c'est Ramon lui-même qui l'a fait remarquer, mais ses effets *durables* diffèrent par là même de la protection temporaire conférée par le virus formolé de Staub.

Ce traitement constituerait ainsi une vaccination passive, les anticorps tissulaires agissant comme le sérum au cours d'autres infections. La nécessité d'injecter ensuite du virus actif à la faveur de l'immunité temporairement réalisée prouve qu'il s'agit d'une action très différente.

On vient de voir que l'injection simultanée de virus et d'organes a pu occasionnellement ne pas tuer l'animal, mais sans jamais le protéger. Sans doute, dans ces conditions, le virus fixé par les tissus *in vitro* ne peut-il se porter sur les organes vivants pour les imprégner.

CHAPITRE III

AUTO-STÉRILISATION

En 1928, Levaditi, Sanchis-Bayarri et Schoen [21] ont remarqué que chez des animaux morts tardivement d'encéphalite, d'herpès ou de rage, on pouvait *exceptionnellement* trouver le cerveau avirulent, malgré la présence de lésions histologiques indiscutables. Ils ont supposé que ce phénomène de « stérilisation » du virus était dû à l'action des leucocytes qui *détruisaient* l'agent infectieux; mais cette destruction du virus s'accompagnait d'une destruction du tissu nerveux et l'animal mourait ainsi tardivement des lésions provoquées par le processus de guérison et non des suites directes de l'infection. Une infection semblable serait une infection « auto-stérilisable ».

Nicolau, Guiraud et Kopciowska [25] ont cherché à étendre la notion d'« auto-stérilisation ». Au lieu de la restreindre à certains cas de mort retardée au cours ou à la suite directe de l'infection, ils ont considéré comme étant de même nature que l'« auto-stérilisation mortelle des neuro-infections » — fait accidentel — la destruction du germe au cours des réactions aboutissant à l'immunisation — fait systématique et régulier.

Nous avons constaté successivement l'avirulence du cerveau dans des infections mortelles de peste aviaire d'Égypte et la disparition du virus dans l'immunisation. Nous pensons que ces deux ordres de faits peuvent être étudiés parallèlement aux faits présentés par Levaditi et par Nicolau, mais pour la simplicité de l'exposé et aussi parce que nos conclusions, en ce qui concerne notre sujet particulier, ne cadrent pas entièrement avec celles de ces auteurs, nous les étudierons séparément.

1. — Infections mortelles auto-stérilisables.

En décembre 1928, nous avons constaté par hasard que le sang et le cerveau de poules mortes d'une infection naturelle ou expérimentale étaient dépourvus de virulence [14].

1° Le 11 décembre 1928, on apporte du marché une poule malade (c'est la première qu'il a été possible de se procurer de la saison); elle meurt le lendemain avec des symptômes très caractéristiques : son sang inoculé à la dose de 1/100 de centimètre cube à la poule 21 est avirulent. (La culture sur gélose est stérile.)

2° Le 19 décembre 1928, la poule 37 reçoit 1/20 de centimètre cube de liquide d'œdème de la tête de la poule n° 4 morte d'infection expérimentale le 4 novembre. Ce liquide a été conservé en glacière pendant six semaines; la poule 37 devient malade le 27 décembre et est trouvée morte le 28 décembre au matin, soit le neuvième jour (1), le sang est injecté par voie musculaire à la dose de 1/20, de 1/10 et enfin de 1 cent. cube à deux reprises à 3 poules neuves, résultat négatif; soumises plus tard à une inoculation, ces 3 poules meurent comme les témoins.

Le cerveau est injecté frais, desséché à 37° deux, quatre jours et au delà à des poules neuves au cours d'essais de vaccination; elles résistent et les premières ayant reçu du cerveau frais ou desséché deux et quatre jours seulement résistent encore plus tard à des tentatives diverses d'infection.

3° Le 7 janvier 1929, la poule 43 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de cerveau du n° 37 desséchée dix jours à 37°. Elle est mise dans la même cage qu'une poule malade qui meurt le 10 janvier; elle meurt le 12 janvier de contagion, soit après cinq jours de contact.

La rate broyée au sable et conservée en glycérine est virulente pour 2 poules. Le cerveau desséché, deux, quatre et sept jours, injecté à des poules neuves ne tue pas mais vaccine et en une injection, même sous-cutanée.

Ces observations — incomplètes et pour cause — nous montrent dès ce moment le fait exceptionnel d'un cerveau avi-

(1) Cette mort après neuf jours est un fait très normal pour un liquide septique conservé six semaines en glacière.

rulent dans la peste aviaire d'Egypte. Bien qu'alors, nous n'ayons pas encore réalisé les expériences qui analysent le processus d'infection, nous avons aussitôt songé à les rattacher aux constatations récentes de Levaditi, Sanchis-Bayarri et Schoen (1).

On ne pouvait guère songer à les expliquer par un accident ayant touché la souche. Le liquide d'œdème ayant servi à inoculer le n° 37 est repris et tue avec cerveau virulent pendant plusieurs passages. D'autres souches nous ont depuis fourni de longues séries de passages sans auto-stérilisation. S'agissait-il d'un fait épidémique comme pouvait le faire croire la coïncidence de ces 3 cas se produisant en moins d'un mois? Rien ne le prouvait et d'autres poules mortes au même moment avaient leur cerveau virulent. De même, les épidémies expérimentales décrites plus loin n'ont pas provoqué d'auto-stérilisation. La peste aviaire d'Egypte tue à coup sûr; y aurait-il cependant une tendance à la destruction du virus dans les infections prolongées? Des expériences répétées affirment le contraire (voir notamment le cas de la poule C, page 219).

Bref, après ces 3 cas cités plus haut, nous avons dû renoncer à trouver de nouveaux cas d'infections mortelles auto-stérilisées, malgré des recherches systématiques et variées.

De juin à décembre 1929, l'épizootie s'arrête net, les inoculations donnent la mort en deux jours, mais il n'y a pas trace d'auto-stérilisation pas plus que dans les semaines suivantes (voir chapitre IV).

En novembre et décembre 1930, au cours des rares cas de mort spontanée qu'il a été possible d'observer, et même parmi les cas de mort après inoculation, nous avons retrouvé le phénomène de la disparition du virus dans le cerveau et parfois dans d'autres organes. Une courte note [20] a donné un exposé d'ensemble des observations; il convient d'en reprendre le détail.

L'épizootie du premier trimestre de 1931 a été sensiblement moins accusée que dans la période correspondante de 1929 et 1930.

(1) W. K. PICARD relate dans son deuxième mémoire sur la pseudo-peste aviaire (p. 13) que « du sixième au dixième jour de la maladie, la virulence du cerveau n'est plus constante et peut disparaître entièrement bientôt après ».

1° Le 23 novembre 1930, le coq M meurt de maladie spontanée au cours de sa période d'observation. Il était isolé depuis plusieurs jours, la maladie a duré également plusieurs jours. Autopsie négative. Après la mort, le sang est injecté à la dose de 0,1 cent. cube à une poule neuve sans résultat. Le cerveau (conservé deux jours à 37° en vue d'une expérience) ne tue pas et la poule qui en a reçu une injection résiste à une violente épizootie provoquée.

2° Le 30 novembre, la poule N est apportée malade du dehors; elle est mise comme source de contagion avec des poules vaccinées par divers produits à l'essai (au total 26 pendant toute l'expérience); le lendemain elle paraît guérie; elle reste au milieu d'elles pendant l'épizootie qui en tue 10 avant elle; le 28 décembre, ses plumes se hérissent, elle prend une attitude voûtée: le 1^{er} janvier, elle est paralysée; le 2 janvier, elle est par terre, ne pouvant plus se tenir sur ses pattes; le 3 janvier, elle est trouvée morte. L'autopsie paraît positive: gros foie foncé, sang foncé, congestion des viscères; la rate tue en neuf jours avec symptômes typiques, le cerveau est avirulent.

3° Le 1^{er} décembre, on apporte une nouvelle poule X malade, endormie, les plumes hérissées, cas typique; on la met avec les poules en expérience d'épidémie en volière; elle meurt à 1 heure de l'après-midi, la crête violacée.

A l'autopsie, qui donne l'impression d'être positive, le sang du cœur est coagulé, le foie rouge foncé et gros, la rate petite et pâle; pas de diarrhée. Cerveau injecté le 1^{er} décembre et le 8 décembre à 550 qui reste indemne mise en volière en milieu épidémique, le 10 décembre, elle meurt le 22 décembre; autopsie négative; cerveau avirulent et immunisant, rate et sang avirulents (ce qui prouve que le cerveau de X n'était pas du tout immunisant, voir plus loin).

Sang (0 c. c. 4), foie et rate et filtrat de fientes avirulents.

La poule 557 injectée de la rate de X est mise en volière le 16 décembre, meurt le 10 janvier avec cerveau, rate et sang avirulents.

4° Le 2 décembre, meurt une poule Z qui est en quarantaine, isolée depuis plus de dix jours. Elle a manifesté un peu de tristesse il y a trois jours, la crête est violacée, l'autopsie douteuse; ses organes et les fientes filtrées sont avirulentes comme dans le cas de la poule X. La poule 553 injectée du cerveau de Z, mise en volière le 10 décembre, meurt le 15 décembre avec cerveau seul virulent (ce qui semble prouver que l'injection de cerveau avait provoqué une certaine immunité). D'autres essais d'immunisation avec les cerveaux de X et de Z mélangés donnent des immunités solides.

5° Le 11 décembre meurt la poule R apportée du dehors la veille, légèrement malade. La tête est violacée, l'autopsie nettement positive. Le cerveau tue en dix jours, le sang (0 c. c. 2) en neuf jours, la rate en huit jours, le virus est donc présent dans tous les organes, mais ne tue pas dans les délais habituels.

6° La poule 554 a été injectée le 6 décembre avec le cerveau de 541 (poule vaccinée), elle meurt le 13 décembre. L'autopsie est positive, cependant le cerveau et le foie sont avirulents.

7° En présence de toutes ces anomalies, le 13 décembre on inocule à 566 le sang de 465 (du 4 septembre 1930), conservé en glacière à une période où ne régnait aucune auto-stérilisation. Or, 566 est malade le 17 et meurt le 18 décembre avec tous les symptômes et les lésions typiques. Son cerveau inoculé à 569 est avirulent et immunisant: après une injection de cerveau, ie 7 janvier, 569 est mise en milieu épidémique et résiste jusqu'au 23 janvier où elle est enlevée; la rate de 566 tue en cinq jours.

Morts de peste aviaire d'Egypte avec cerveau avirulent pendant l'hiver 1930 1931. Les poules désignées par une lettre sont mortes de maladie spontanée; celles désignées par un numéro d'ordre ont fait une maladie expérimentale. En fin de liste, quelques témoins contemporains.

NUMÉRO d'ordre	DATE de la mort	ORIGINE	ÉTAT DU				OBSERVATIONS
			cerveau	rate	foie	sang	
Poule 520.	9 novembre.	Inoculée avec le cerveau de 542 (p. vac- cinée).	— imm.	—	—	—	Morte en trois jours.
Coq M.	23 novembre.	En période d'observation.	— non imm.	—	—	—	Autopsie négative.
Poule X.	1 ^{er} décembre.	Apportée malade du dehors.	—	—	—	—	Filtrat de fientes avirulent.
Poule Z.	2 décembre.	En observation.	— imm?	—	—	—	Autopsie négative.
Poule P.	5 décembre.	En observation.	— imm?	—	—	—	Filtrat de fientes avirulent.
Poule O.	8 décembre.	En observation.	— non imm.	—	—	—	Autopsie négative.
Poule 554.	13 décembre.	Inoculée avec le cerveau de 544 (p. vac- cinée) le 6 décembre.	— imm.	—	+ 15 j.	—	Autopsie douteuse.
Poule 566.	18 décembre.	Inoculée avec du sang virulent de vieille souche le 13 décembre.	— imm.	+ 5 j.	—	—	Autopsie douteuse.
Poule 550.	22 décembre.	Inoculée deux fois avec le cerveau de X; morte dans une épizootie.	— imm.	—	—	—	Autopsie positive.
Poule W.	23 décembre.	Apportée malade du dehors.	+ 6 j.	+ 14 j.	—	—	Autopsie négative.
Poule K.	3 janvier.	En observation; longue maladie (neuf jours).	— imm.	—	—	—	Autopsie positive.
Poule N.	3 janvier.	Fait d'abord une maladie spontanée; guérit, meurt un mois plus tard en milieu épizootique.	— imm.	+ 9 j.	—	—	Autopsie positive.
Poule 557.	40 janvier.	Inoculée avec la rate de X, puis en milieu épizootique.	— imm.	—	—	—	Autopsie positive.
Poule T.	21 janvier.	En observation.	— imm.	+ 6 j.	—	—	Autopsie douteuse.
Poule 624.	5 février.	Inoculée avec le cerveau de S le 31 janvier.	— imm.	—	—	—	Autopsie positive.
Poule 626.	7 février.	Inoculée avec le cerveau de T le 1 ^{er} janvier.	— imm.	—	—	—	Autopsie positive.
Poule R.	11 décembre.	Apportée malade du dehors.	+ 10 j.	+ 8 j.	—	—	Autopsie positive.
Poule 564.	26 décembre.	Inoculée avec le foie de Q le 11 décembre.	+ 5 j.	+ 8 j.	—	—	Autopsie positive.
Poule S.	21 janvier.	En observation.	+ 5 j.	+ 3 j.	—	+ 9 j.	Autopsie positive.

— = avirulent; + = virulent, tué en *n* jours; imm. = immunisant.

Cette liste pourrait s'allonger encore de quelques cas; telle quelle et avec le tableau qui résume les épreuves faites, elle montre que dans la période de fin novembre et début de décembre 1930, la majorité des poules mortes avec plus ou moins de signes de peste aviaire et hémoculture négative ont le cerveau avirulent et parfois également la rate, le foie, le sang et les fientes.

Deux poules, 544 et 566 *injectées* avec des produits virulents meurent en cinq et sept jours et leur cerveau est également avirulent. Quelques sujets ont eu une rate tuant à retardement, puis bientôt, vers le 11 février 1931, les cas d'auto-stérilisation deviennent de plus en plus rares. Après le 7 février, il n'y en a plus.

Nous nous sommes demandé plus haut d'où provenait cette disparition du virus, fait exceptionnel, apparaissant spontanément.

Dans les cas d'injection, la souche ne saurait être mise en cause, puisqu'il s'agit de souches conservées en ampoules scellées et ayant tué avec cerveau virulent à un moment où l'auto-stérilisation n'apparaissait pas. Le terrain serait-il modifié? Oui plutôt, mais comment l'entendre? La poule qui mourra auto-stérilisée n'est pas immunisée; dans le cas du n° 566, la poule meurt cinq jours après l'inoculation, c'est-à-dire en un temps normal et mesuré par le jour même de l'inoculation; d'ailleurs, si les poules avaient une susceptibilité moindre pour le virus sous l'influence de la saison, on s'attendrait à ce que ce soit vrai pour toutes; nous pensons plus volontiers à un

	INFECTIONS MÔRTELLES AUTO-STÉRILISÉES			INFECTIONS NON MÔRTELLES auto-stérilisées
	1 ^{re} période	2 ^e période	3 ^e période	
Cerveau . . .	Avirulent. non immunisant.	Avirulent. immunisant.	Avirulent. Immunisant.	Avirulent. } sauf
Rate	Avirulente. non immunisante.	Avirulente.	Virulente.	non immunisant } réactivation.
Sang	Avirulent, non immunisant.	Avirulent.	Avirulent.	Avirulent.
Répartition. .	Toutes les poules 5 sur 5.	Pas toutes les poules ± 3 sur 5. Pendant une saison.	Quelques poules 2 sur 5.	Toutes les poules. Régulièrement.

« principe », inégalement réparti chez différentes poules, végétant dans les cavités naturelles, qui au fort de sa virulence détruit le virus, au point de rendre le cerveau infecté à la fois avirulent et non immunisant et la rate avirulente; un peu plus tard, le virus du cerveau est encore neutralisé (puisque avirulent) mais pas détruit (puisque immunisant) et le virus de la rate est seulement affaibli (la rate tuant à retardement); bientôt, le virus de la rate redevient normal, mais le cerveau vaccine; encore plus tard, le cerveau redevient virulent, c'est le retour à l'infection normale.

Remarquons tout d'abord qu'en 1928 et en 1930; c'est vers le début de l'hiver que se produisent les phénomènes d'auto-stérilisation, c'est-à-dire un peu avant et au moment même où l'épizootie repart après l'arrêt de l'été, soit à la période pré-épidémique.

Puisque, dans tous ces cas, le virus semble s'être distribué dans tout l'organisme et qu'il a été attaqué et modifié sur place, dans différents organes (y compris le sang qui est touché par l'auto-stérilisation mais ne semble être que le véhicule du virus), on est tenté d'admettre que le « principe », supposé plus haut exister dans les cavités naturelles de la poule, est facilement réactivable par le virus et que, sitôt le virus introduit sous la peau ou par les voies naturelles, il le suit, s'attache à lui avec plus ou moins de succès d'après les organes intéressés, se multiplie avec lui et arrive à le neutraliser complètement.

Il paraît évident que cette destruction du virus est de nature à réduire ses chances de diffusion, autrement dit de diminuer l'épidémie; on aurait ainsi une épidémie du « principe » alternant avec l'épizootie pestique elle-même, le point culminant de la première coïncidant avec l'étiage de l'autre. Malheureusement, les faits ne sont pas si simples et l'épizootie disparaît bien avant l'apparition du principe; on trouve également des cas virulents avant que l'épizootie ne reprenne, et en même temps que des cas auto-stérilisés.

Comment l'action du principe sur le virus en fait-elle un vaccin et uniquement dans le cerveau? Question qui reste sans réponse; il est toutefois intéressant de constater que le changement du virus en vaccin se retrouvera plus loin dans les auto-stérilisations non mortelles ou dans les expériences de

production artificielle d'infections auto-stérilisées mortelles.

Pourquoi aussi ce principe ne se manifeste-t-il qu'à un moment de l'année et encore irrégulièrement (il ne s'est pas montré en 1929)? Peut-être pour la même raison que les virus eux-mêmes ne s'attaquent aux animaux supérieurs que suivant une courbe saisonnière, ceci dépendant de l'exaltation du virus ou de la résistance augmentée du terrain.

Que penser de la nature de ce principe hypothétique? Il n'agit guère sur l'épidémie; il n'empêche pas la mort; dans nombre de cas, il laisse les lésions typiques se produire, puisqu'il rejoint le virus dans les cellules où il s'est localisé, dans certains organes seulement, on est tenté de le considérer comme un autre « virus »; d'ailleurs, le fait que tous les organes ne sont pas nécessairement auto-stérilisés à la fois et, d'autre part, que le virus peut entrer dans divers organes, écarte l'idée d'une réaction générale et humorale de l'organisme. Cependant, aucune des réactions tentées *in vitro* n'a donné de renseignement intéressant sur sa nature. Nous avons signalé précédemment [15] l'avirulence du poumon dans 2 cas. Ce fait n'a plus été retrouvé dans d'autres essais et a été abandonné. Mais, même injecté à deux reprises, le poumon n'immunise pas.

D'autre part, nous avons cherché à reproduire l'auto-stérilisation artificiellement, en injectant des virus mélangés au préalable avec des émulsions d'organes de poule neuve ou immunisée. L'expérience a réussi plusieurs fois, mais irrégulièrement, même en répétant strictement les données de l'expérience.

Le 21 mai 1929, on mélange 1/100 de centimètre cube de sang frais virulent avec des organes finement broyés de la poule 133 immunisée au jaune d'œuf (voir plus haut).

Les mélanges en 2 cent. cubes de liquide sont maintenus trois heures à l'étuve avant d'être injectés.

Virus + sang 0 c.c. 5 mort le huitième jour avec cerveau virulent.

Virus + sang 0 c.c. 6 mort le treizième jour avec cerveau virulent (après treize jours).

Virus + cerveau mort le quatrième jour avec cerveau *avirulent* et immunisant et sang virulent.

Virus + rate résiste.

Virus + jaune d'œuf intraabdominal mort le quatrième jour avec cerveau virulent.

Dans le cas qui précède, la poule avec cerveau auto-stérilisé est morte dans les délais normaux. Dans l'expérience suivante,

les poules auto-stérilisées sont mortes avec un retard évident, malheureusement, les poules mortes dans les délais normaux n'ont pas été essayées.

Le 22 février 1930, on mélange 1/250 de centimètre cube de sang frais d'une poule morte d'infection normale avec des organes broyés d'un coq neuf, sacrifié au moment de l'expérience. Les mélanges de 2 cent. cubes de liquide sont maintenus deux heures trente-cinq à 37°, puis centrifugés cinq minutes; le liquide surnageant et le culot repris dans 1 cent. cube d'eau physiologique sont inoculés séparément comme ci-dessous.

Virus + cerveau liquide mort le sixième jour.

Virus + cerveau culot (329) mort le huitième jour, avec cerveau *avirulent* et immunisant par voie sous-cutanée.

Virus + testicule liquide résiste mais non immunisé.

Virus + testicule culot mort le cinquième jour, avec sang virulent au 1/10.000.

Virus + rate liquide mort le quatrième jour.

Virus + rate culot mort le sixième jour.

Virus + foie liquide mort le cinquième jour.

Virus + foie culot (335) mort le treizième jour, cerveau *avirulent* et immunisant, par voie sous-cutanée.

1° La poule 329 devient visiblement malade le 1^{er} mars et meurt le 2.

Cerveau frais injecté à 343 le 2 mars, *avirulent* et immunisant; cerveau glyciné à 347 le 8 mars, *avirulent*, n'immunise pas.

Cerveau glyciné à 348, le 8 mars, *avirulent* et immunisant.

Le 17 mars, 347 et 348 mangent les viscères d'une poule infectée; le 19 mars, 347 est morte avec œdème de la tête typique. 348 résiste, est mise le 23 mars en milieu épidémique et résiste; le 12 avril, soit vingt jours plus tard, elle est sacrifiée, son cerveau inoculé à 384 est *avirulent* et immunisant.

2° La poule 335 devient malade le 28 février, mais paraît guérie le lendemain; les symptômes nerveux réapparaissent le 4 avril, s'aggravent le 5 et le 6, et le 7 au matin elle est trouvée mourante.

Cerveau frais inoculé à 346, *avirulent*; le 14 mars, 346 mise en volière avec des poules malades devient malade le 19; *id.* le 20, 21; le 22, elle est mieux, le sang prélevé à la veine axillaire est *avirulent*; le 23 mars, elle paraît guérie; le 24, la guérison est complète; un coq mis dans sa volière avec elle seule s'empresse de la saillir et ne contracte pas la maladie après plusieurs jours de cohabitation.

Le 12 mars, la rate glycinée de 335 est inoculée à 354: *avirulente* et non immunisante.

Le 17 mars, le sang (0 c. c. 5) est *avirulent* et non immunisant.

Le 21 mars, de nouvelles injections de cerveau glyciné immunisent d'emblée et complètement les poules 363 et 364 que nous retrouverons plus loin.

Le 17 mars, les cerveaux de 329 et 335 mélangés sont injectés à 356 et l'immunisent également.

Dans 1 seul cas chez une poule injectée de mélange de virus et d'organes, nous avons trouvé la rate *avirulente* et le cerveau virulent. Cette rate n'était pas immunisante.

L'idée de reproduire artificiellement les phénomènes d'auto-stérilisation ne nous serait pas venue, si nous avions eu à ce

moment l'idée d'un facteur saisonnier comme nous l'avons maintenant. Mais les résultats obtenus, inexplicables à ce moment, pourraient mieux se comprendre avec la notion d'un principe antagoniste de celui de la peste aviaire. Apparaissant spontanément quand les facteurs saisonniers lui sont favorables, il serait occasionnellement capable d'exercer son activité par suite d'une modification du virus obtenue par contact avec des émulsions d'organes *in vitro*.

Il convient d'ajouter pour conclure cette discussion que les expériences tentées en vue de démontrer de façon certaine la réalité de ce « principe » ont échoué.

II. — Infections auto-stérilisables non mortelles.

Nicolau [23, 25] constate l'analogie histologique des lésions mortelles et des « lésions d'immunité » dans les neuro-infections et conclut à l'identité des deux processus. Mais cette conclusion fait appel à une notion pratiquement inconnue dans la peste aviaire, la guérison spontanée de l'animal.

Sur 1.000 poules qui ont passé sous nos yeux au laboratoire ou au dehors, nous avons vu 6 animaux neufs survivre à une atteinte nette de la maladie, après inoculation et 5 en fin d'épidémie, dont 2 seulement définitivement immunisées. Par contre, l'immunisation est réalisable à volonté, et sur plus de 50 poules immunisées par des moyens divers, et dont certaines sont restées plusieurs mois en observation, nous n'avons constaté aucune mort tardive. En ce qui concerne la peste aviaire d'Égypte, nous avons constaté précédemment que le cerveau de poules mortes d'infection mortelle auto-stérilisable est généralement immunisant; mais le cerveau de poules immunisées est-il immunisant lui aussi?

La parole est à l'expérience. Nous avons précédemment cherché quelle était l'influence immunisante des injections de cerveau de poule neuve — elle est nulle — et dans un cas, si une poule immunisée conservait du virus dans le cerveau, le hasard avait voulu que cette seule expérience fût négative. Nous avons repris ces essais sur une plus grande échelle en juin 1929 après la lecture de la note de Nicolau, Giraud et Kopciowska [23].

1° La poule 128 a résisté en fin d'épidémie (voir plus loin), ensuite a été éprouvée avec un virus glycérimé, avirulent et immunisant; le 15 mai, elle résiste à une contagion (avec 5 autres poules qui meurent); elle est sacrifiée en bonne santé le 6 juin, l'autopsie est négative.

Le 20 juin 1929, le coq 192 reçoit 2 cent. cubes d'émulsion de cerveau de 128 conservé depuis quatorze jours en glycérine à la glacière, et le 24 juin une deuxième injection.

Le 2 juillet, il est mis en volière en milieu épidémique, et le 3 juillet mange du foie virulent avec 2 autres poules, l'une servant de témoin, qui meurt en trois jours, et l'autre 170, vaccinée par 2 injections de virus glycérimé.

191 et 170 résistent tous deux jusqu'en novembre où nous les retrouvons.

Donc, le cerveau de 128 est *immunisant*.

2° Le 19 novembre 1929, le coq 192, sans avoir repris contact avec du nouveau virus, est sacrifié. De son cerveau, on fait sous la peau une injection à la poule n° 214, deux injections à la poule n° 215, qui mangent toutes deux du foie virulent le 4 décembre et meurent le 6 et le 7 décembre.

Donc, le cerveau de 192 est *indifférent*. (Nous désignons ainsi un cerveau qui n'est ni immunisant, ni virulent.)

3° Le 4 décembre 1929, la poule 170 est mise avec 2 autres poules, et toutes 3 mangent des organes virulents: les 2 autres meurent le 5 décembre et le 6 décembre dans la cage commune. Elle reste sans manifester le moindre symptôme jusqu'au 20 décembre. Ce jour-là, elle est sacrifiée en parfaite santé. Son cerveau frais, injecté sous la peau d'une poule neuve, la tue en cinq jours. Une injection du même cerveau glycérimé, cinq jours plus tard, tue une nouvelle poule en cinq jours. La rate et le foie injectés à 2 autres poules sont avirulents.

Donc, le cerveau de 170 est *virulent*.

Ainsi, l'injection du cerveau de 3 poules immunisées et dûment éprouvées donne des résultats différents. Pourquoi? De même, nous avons eu sous les yeux plusieurs poules guéries d'une infection sérieuse; leur cerveau a été étudié au point de vue de ses qualités immunologiques.

1° Poule 238 a reçu 1/500.000 de centimètre cube de virus 1929 (voir plus loin) le 8 décembre 1929, et guérit; elle mange du foie virulent le 26 décembre, le 5 janvier et le 13 janvier; elle résiste. Sacrifiée le 20 janvier 1930, le cerveau est indifférent même après 2 injections.

2° Poule 235 a été vaccinée avec de la rate formolée.

3° Poule 236 a été vaccinée avec du cerveau formolé. Toutes 2 mangent le 5 janvier du foie virulent et font une atteinte grave. Guéries, elles mangent de nouveau le 13 janvier du foie virulent et résistent.

235, sacrifiée le 25 janvier, a un cerveau indifférent.

236, sacrifiée le 25 février après un nouveau repas infectant le 20 février a un cerveau immunisant par une seule injection sous-cutanée (vérifié sur plusieurs poules). Son pouvoir immunisant se maintient pendant plusieurs semaines en glycérine à la glacière, puis il diminue.

4° Poule 346, vaccinée le 7 mars 1930 par le cerveau auto-stérilisé de 335 (voir plus haut). Le 14 mars, exposée à une épizootie, elle est malade plu-

sieurs jours, mais guérit vers le 24 mars. Sacrifiée dès le lendemain, sans épreuve préalable, son cerveau ne protège pas le n° 369 contre un repas infectant; deux injections faites à 402 sont également inefficaces; donc, cerveau indifférent.

5° Poule 391, vaccinée le 25 avril 1930 par le cerveau de 348, reçoit le 1^{er} mai une injection sous-cutanée de 1/50 de centimètre cube de sang virulent; malade pendant quatre jours, elle se rétablit, et le 19 mai résiste parfaitement à 1/100 de centimètre cube de sang virulent. Sacrifiée le 4 juin, son cerveau est immunisant par une injection.

6° Poule 405, vaccinée le 4 mai 1930 par une injection de cerveau auto-stérilisé, reçoit une injection de cerveau virulent; malade pendant quatre jours, elle guérit, et reçoit le 21 mai une instillation nasale de sang virulent; sacrifiée le 4 juin, son cerveau est faiblement immunisant, même en 2 injections.

Cette liste, incomplète d'ailleurs, de poules guéries (c'est-à-dire ayant été *malades*), pourrait s'allonger de toutes les poules immunisées sans symptômes (c'est-à-dire ayant acquis l'immunité *sans maladie apparente*) et qui ont servi à établir les faits qui vont suivre. Elle montre que la qualité du cerveau est variable d'après l'épreuve qui l'a précédée. Mais, contrairement au cerveau des poules auto-stérilisées mortes, qui est immunisant, le cerveau de poules guéries ou immunisées, non réinfectées, est indifférent.

La dose vaccinante minima efficace en une injection semble être d'environ 1/50 d'encéphale, dans les conditions optima. La protection conférée est appréciée, faute d'indication contraire par l'ingestion d'un demi-foie virulent, ou par un contact prolongé en milieu épidémique (c'est-à-dire avec plusieurs poules malades constituant un foyer). Mais le simple énoncé de tous ces facteurs montre que l'immunité est relative. Il est facile de comprendre que la résistance à l'inoculation ou à une friction de doses fortes de virus exige deux injections de cerveau solidement immunisant. Mais un cerveau indifférent, même injecté à plusieurs reprises, reste sans action immunisante, même vis-à-vis de l'épreuve légère, bien que sûre, d'un repas infectant.

En répétant ces expériences d'une façon systématique, on peut dégager les principes suivants :

1° L'encéphale d'une poule guérie ou immunisée, non éprouvée à nouveau est indifférent. Pour retrouver le germe, c'est-à-dire pour le rendre virulent ou immunisant, il faut l'éprouver par l'administration de virus sans qu'il en résulte d'ailleurs un

changement extérieur quelconque dans l'état de la poule.

2° Comme épreuve naturelle, nous avons exposé la poule à une épidémie de volière ou nous lui avons fait manger un morceau de foie (en quantité quelconque). On s'attendrait, d'après ce qui a été dit précédemment, à ce que ces deux épreuves soient équivalentes, la poule semblant susceptible de contracter l'infection par la voie digestive ou par contagion indifféremment ; il n'en est rien. La contagion rend le cerveau virulent ; entre le treizième et le vingtième jour, le cerveau devient immunisant ; du vingtième au trentième jour, il redevient indifférent. Ces termes sont approximatifs comme la contagion

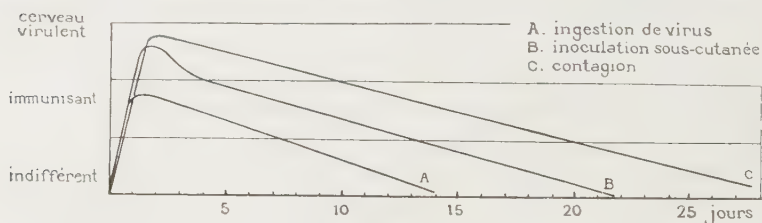


FIG. 2.

elle-même et s'apprécie après une ou deux injections de 1/20 de cerveau de l'animal sacrifié à des poules neuves.

L'ingestion de foie virulent ne rend jamais le cerveau virulent ; dès quarante-huit heures après, le cerveau est immunisant ; le septième jour, il devient indifférent. C'est le procédé à la fois le plus sûr et le plus efficace pour obtenir du cerveau bien immunisant

3° Réinfectée par voie sous-cutanée à des doses de 1/50^e à 1/200^e de centimètre cube de sang virulent, le cerveau devient tout d'abord virulent ; vers le cinquième jour, il devient immunisant ; entre le quinzième et le vingtième jour, il devient indifférent. D'après l'expérience n° 3 citée plus haut, un cerveau ayant atteint le stade indifférent peut redevenir virulent par une nouvelle injection de virus ou par un séjour en milieu épidémique.

4° Or, pendant le temps où le cerveau est infectieux, la poule n'est nullement contagieuse. La rate, le foie, les glandes sexuelles et le sang restent avirulents et n'immunisent pas. Nous aboutissons ici à un singulier paradoxe. Chez une poule

neuve, le système nerveux n'est envahi que tardivement ; chez l'animal immunisé, seul le cerveau est touché par le virus en cas de réinfection. Or, dans le premier cas, la mort semble causée par l'atteinte du système nerveux qui est à la fois le plus sensible et le dernier atteint, alors que dans le dernier cas le système nerveux est devenu insensible tout en étant le seul touché. L'immunité, d'ailleurs, est indifférente à la présence ou à l'absence du virus. Elle est de longue durée, alors que les stades infectieux et immunisant du cerveau sont temporaires. Une fois arrivé au stade indifférent, il est facile de réactiver le cerveau par une nouvelle infection.

Profitant de ces notions, il est possible de produire du cerveau immunisant en série. Voici le détail de l'expérience citée précédemment [17] :



La poule 262 (voir plus haut) après vaccination au virus formolé est éprouvée et guérit ; puis, éprouvée de nouveau par des repas infectants le 13 janvier et le 20 février, elle est sacrifiée le 25 février ; son cerveau est immunisant. Il est inoculé au coq 336 qui résiste et le 5 mars mange un foie virulent.

Le coq 336 est sacrifié le 11 mars ; son cerveau est inoculé à 351 ; celle-ci résiste et mange le 16 mars un gros morceau de foie virulent.

Le 21 mars, 351 est sacrifiée, le cerveau est inoculé à 362 qui résiste et, le 27 mars, mange du foie virulent.

Le 30 mars, 362 est sacrifiée, son cerveau est inoculé après six jours de glacière à 380 qui, le 11 avril, mange un demi-foie virulent et, le 21 avril, reçoit une inoculation de cerveau virulent sous la peau.

Le 21 avril, 380 est sacrifié avec cerveau virulent (2 vérifications) et foie indifférent.

Aucune des poules employées à cette expérience n'a manifesté à aucun moment le moindre symptôme morbide. Il est bien entendu que des témoins ont été pris pour vérifier de plus près l'état de résistance conférée par les divers cerveaux en leur laissant un plus long délai.

Notons aussi que la réinfection a été chaque fois obtenue par ingestion de virus ; c'est le moyen le plus efficace pour rendre le cerveau *immunisant*.

Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que si, au cours d'une réinfection, une poule devient malade et guérit, elle détruit le virus rapidement et son cerveau devient immédiate-

ment indifférent. Au contraire, si elle ne fait pas de réaction visible, l'évolution du virus dans le cerveau est progressive et suit les règles énoncées plus haut.

On peut résumer ce qui précède en disant que chez une poule immunisée l'infection devient une surinfection ; elle ne touche plus que le système nerveux ; le virus s'y porte rapidement et y est décelable d'abord en qualité d'agent pathogène (au moins dans la contagion naturelle), puis sous une forme où il a perdu son pouvoir pathogène et au bout d'un temps variable, d'après les circonstances de la réinfection, il disparaît sans laisser de traces.

*
*
*

Ce virus ayant perdu son pouvoir pathogène, mais ayant gardé ses propriétés antigènes, rappelle évidemment celui que nous avons observé dans les infections mortelles auto-stérilisables et on peut supposer que tous deux ont subi les mêmes influences. Quand, plus tard, le cerveau immunisé devient indifférent, nous pouvons admettre que le virus y est détruit, puisqu'aucune réaction biologique ne témoigne de sa présence ; mais du moment que le cerveau jouit de propriétés vaccinales, nous sommes forcés d'admettre que le virus n'y est pas encore détruit ; est-il vivant ? l'immunité qu'il confère nous pousse à l'admettre.

C'est au cours de nos expériences de vaccination active par cerveau desséché que nous avons rencontré nos premiers cas d'auto-stérilisation mortelle ; en soumettant des cerveaux auto-stérilisés à des dessiccations progressives, nous avons constaté que le cerveau auto-stérilisé gardait son pouvoir vaccinant tant qu'il ne dépassait pas un certain temps de dessiccation, tout comme le cerveau virulent, soit dix jours au maximum ; ceci tendrait à faire admettre que le virus apparemment auto-stérilisé est vivant sous une forme particulière (1).

(1) C'est la conclusion à laquelle aboutissent d'une part Perdrau [27] pour l'encéphalite léthargique et Nicolau et Kopciowska [26] pour le virus herpétique qu'ils réactivent parfois par séjour dans la glycérine. Ionesco Mihaesti [9 10] est arrivé à la même conclusion pour les cerveaux auto-stérilisés dans la poliomyélite, en constatant qu'ils pouvaient redevenir virulents si on mélangeait plusieurs échantillons séparément inactifs. Mais, pour notre virus pestique, le mélange d'organes n'a pas réussi à réveiller sa virulence.

On a supposé qu'un virus auto-stérilisé pouvait résulter de la neutralisation par les anticorps. Le courant électrique pourrait, dans ces conditions, séparer les deux éléments du complexe ainsi obtenu. Nous avons fait à ce sujet deux essais de cataphorèse (1).

29 avril 1930 : cerveau de 336 (auto-stérilisation non mortelle); l'émulsion, conservée en glacière dans la glycérine depuis six semaines, est additionnée de 9 volumes d'eau salée à 2 p. 100 ($pH = 6,8$ avant l'opération) et soumise à un courant continu de 110 volts, à 3,5 milliampères pendant trois heures et demie. 4 cent. cubes de chaque branche de tube en U sont inoculés à deux poules qui résistent. Eprouvées plus tard, par 1/100 de centimètre cube de sang virulent, elles meurent en six et dix jours et leur cerveau est virulent.

14 mai 1930 : cerveau de 348 (auto-stérilisation non mortelle). On décante la glycérine de l'émulsion. 10 cent. cubes du sédiment sont finement broyés et dilués dans 70 cent. cubes d'eau physiologique à 9 p. 1000 ($pH = 7,2$ au départ). Le courant passe à 7,5 milliampères au début et à 9,5 à la fin de l'opération, le courant étant de 110 volts pendant six ou quinze heures. On prélève à l'anode ($pH = 5$) et à la cathode ($pH = 7$) le liquide avec la gélose qui y plonge et on injecte 8 cent. cubes à deux poules qui résistent; elles mangent chacune un demi-foie sans être malades, mais succombent plus tard, le 25 juin, à l'injection intratrachéale de 1/25 de centimètre cube de sang virulent. Il faut tenir compte que, pendant le passage du courant, l'émulsion sédimente et que le liquide injecté même à la dose de plusieurs centimètres cubes est une émulsion très faible.

Aucune de ces expériences n'a fait apparaître le germe virulent.

Par contre, dans 4 cas seulement, sur un bon nombre d'essais, nous avons constaté qu'un cerveau frais virulent et immunisant était devenu virulent par vieillissement de deux mois à la glacière dans la glycérine. Ces 4 cas ont été obtenus au cours de l'hiver 1930-1931 dans des cas d'auto-stérilisation mortelle. En voici le détail :

Le cerveau de 550 est inoculé frais le 22 décembre 1930 à 574 qui devient immunisée sans avoir présenté le moindre symptôme morbide.

Le 5 mars 1931, il est injecté sous forme d'émulsion glycérinée à 668 qui meurt en six jours, avec symptômes et autopsie caractéristiques.

Le cerveau de 557 est inoculé après neuf jours de glacière le 19 janvier 1931 à 617 qui devient immunisée. Le 5 mars 1931, il est injecté sous forme d'émulsion glycérinée à 669 qui meurt en quatre jours avec symptômes et lésions typiques et cerveau virulent.

(1) N'ayant qu'une installation de fortune, nous nous sommes servi comme tube en U du filtre terminal de l'appareil à verdunisation de Bunau-Varilla, les électrodes y étant reliés comme dans les appareils types par des tubes coudés remplis de gélose.

Le cerveau de 566 est inoculé frais le 18 décembre 1930 à 519 qui devient immunisée. Le 5 mars 1931, il est injecté sous forme d'émulsion glycérinée à 670 qui meurt en cinq jours avec symptômes et lésions caractéristiques et cerveau virulent.

Le cerveau de 624 du 5 février 1931 a été injecté à deux reprises à 636 le 5 février et le 14 février, et l'a immunisée. Le 6 avril, injecté à 690, il la tue en sept jours avec symptômes et autopsie caractéristiques.

Nous nous sommes aperçu pour la première fois de ce changement après avoir mélangé 7 cerveaux auto-stérilisés qui, individuellement, s'étaient montrés avirulents au cours d'essais antérieurs. Ayant constaté que le mélange était virulent, il a été procédé à un examen de chaque souche en particulier. 3 d'entre elles étaient devenues virulentes. Mais nombre d'autres cerveaux et plusieurs rates de poules auto-stérilisées, examinés après un séjour égal ou plus long à la glacière, ne se sont pas régénérés. Le fait reste donc exceptionnel.

Il reste que le cerveau peut devenir, dans les infections auto-stérilisables, mortelles ou non, le siège d'un virus ayant perdu (au moins temporairement) ses qualités pathogènes. Mais dans le premier cas, il s'agit d'un fait très exceptionnel. Dans une infection se déroulant normalement, aboutissant à la mort dans les délais habituels ou à peine prolongés, le cerveau est habituellement très virulent de même que les autres organes. Pourquoi dans certains cas devient-il avirulent? Nous hésitons à attribuer cet effet à l'action pure et simple des leucocytes, qui entrent régulièrement en jeu dans tous les processus inflammatoires dus au virus pestique; et ce que nous disons ici du cerveau, nous pourrions le dire de tous les organes où nous avons observé exceptionnellement la disparition du virus au moment de la mort. A un effet exceptionnel, il convient de trouver une cause n'entrant qu'exceptionnellement en jeu. Nous avons supposé plus haut l'intervention d'un agent antagoniste du virus qui n'apparaîtrait lui-même qu'exceptionnellement dans des conditions très spéciales.

Dans le deuxième cas, au contraire, c'est-à-dire dans les infections auto-stérilisables non mortelles, la transformation du virus en vaccin devient un fait régulier et répondant à un déterminisme précis : il convient donc de l'expliquer par un processus régulièrement présent, au cours des phénomènes d'immunité. Or, nous voyons l'immunité persister longtemps

(sinon toujours), l'activité leucocytaire des organes immunisés affecter une allure essentiellement chronique, alors que le cerveau va de la virulence à l'avirulence (en passant par un virus du stade immunisant) avec rapidité et d'après les réinfections auxquelles l'organisme est soumis.

Dans tous les cas observés sauf deux, la mort a paru être la fin normale de la maladie. Dans deux cas, au contraire, nous avons eu l'impression que la mort résultait des lésions, à un moment où la maladie semblait décliner, mais ceci se passait dans des conditions tout à fait particulières.

Le 24 septembre 1930, la poule 486 reçoit 1 cent. cube d'émulsion de cerveau formolé pendant quarante-quatre heures à 37°; le 28 et le 29 septembre, elle devient malade; le 30, elle paraît endormie comme une poule en convalescence; le 1^{er} octobre, elle est prise de spasmes qui durent toute la journée, la tête est tendue en arrière; le 2, son état paraît désespéré, elle est butée contre les parois de sa cage, les douleurs sont moins violentes, mais reprennent au moindre contact; ce jour-là et le lendemain, elle reçoit 2 c. c. 5 de plasma citraté (volume original de plasma d'une poule immunisée) qui la calme progressivement. Le 4 octobre, rechute grave; elle est sacrifiée mourante dans la matinée; autopsie absolument négative. Cerveau, foie, rate et sang non virulents. La poule ayant reçu deux injections sous-cutanées de ce cerveau et exposée à une épidémie fait une infection sévère et guérit.

La poule 625 est injectée le 31 janvier 1931 du cerveau de T, morte de maladie spontanée (avec rate virulente). Le 9 février, ayant parfaitement résisté à cette injection, elle reçoit une injection de rate de T, conservée dans la glycérine; elle devient malade le 14 et 15 février; le 16, elle dort, la tête enfouie sous une aile, signe habituel de convalescence; du 17 au 19, la situation semble s'améliorer; le 20, elle est trouvée morte dans sa cage. Autopsie positive : cerveau injecté avec hémorragie du diploé, mais rate petite et pâle. Cerveau, foie et rate avirulents.

La poule 650 qui a reçu l'injection de cerveau de 626, exposée à une contagion, devient malade pendant quatre à cinq jours et guérit.

Dans les infections mortelles auto-stérilisables, nous avons constaté la disparition du « virus virulent » en quatre à cinq jours (y compris toute l'évolution du processus infectieux) alors que, dans les cas d'immunité, nous le voyons persister quinze jours après une réinfection. Ce délai prolongé nous montre une fois de plus que l'élimination du virus par l'organisme obéit à des mécanismes divers.

En résumé, que la disparition du virus du cerveau ou des organes en général soit le fait de l'immunité ou d'un phénomène mal connu qui, en tout cas, n'empêche pas la mort, on peut observer trois phases de cette évolution, à savoir :

Cerveau virulent, cerveau immunisant, cerveau indifférent.
Mais là s'arrête l'analogie entre les deux phénomènes.

Dans l'auto-stérilisation mortelle, fait exceptionnel et saisonnier, au moment de la mort, il est de règle que le cerveau soit immunisant. Dans quelques cas il s'est montré indifférent : à ce moment les organes abdominaux étaient également avirulents ; ceci semble s'être passé au maximum d'exaltation du principe qui intervient dans la lutte entre le virus et la poule.

Dans l'auto-stérilisation non mortelle des poules immunisées, il n'intervient aucun facteur saisonnier. Dans la contagion naturelle, le cerveau est réinfecté et demeure virulent pendant une quinzaine de jours en moyenne ; puis il devient immunisant et enfin indifférent, et il reste indifférent tant qu'une nouvelle infection ne vient pas le réactiver.

Ces phénomènes ne se manifestent que si on sacrifie à intervalles définis des poules immunisées.

Mais voici d'autres faits qui confirment la distinction qu'il y a lieu d'établir entre les deux processus d'auto-stérilisation.

Immunisons plusieurs poules par deux injections de vaccin actif. Soumettons-les ensuite soit à une épreuve identique, soit à une épizootie.

Une certaine proportion meurt. Si on examine alors les organes de ces poules insuffisamment ou mal vaccinées, on constate que *souvent* le cerveau est le seul organe virulent. Pour rendre ces exemples plus saisissants, nous les choisissons à dessein pendant la période de décembre 1930, au moment où « sévissait » l'auto-stérilisation mortelle des poules neuves. Pour celles-ci, l'auto-stérilisation est, avant tout, l'avirulence du cerveau ; pour les poules immunisées, le cerveau est généralement le seul organe virulent.

Poule 541, vaccinée par un vaccin glycérimé (venant d'un laboratoire étranger à l'essai), par deux injections sous-cutanées (2 poules sur 5 meurent à l'épreuve épidémique), le 19 novembre 1930 et le 26 novembre.

Dès le 26 novembre, conformément aux instructions reçues, elle mange du foie virulent ; le 1^{er} décembre, la poule X, malade, est mise comme source de contagion dans la volière ; le 5 décembre, 541 est malade ; elle meurt le 6 décembre ; autopsie douteuse : foie rouge foncé mais pas gros, pas d'injection notable des viscères. Cerveau virulent, injecté à 544, qui meurt le 13 décembre avec cerveau et foie avirulents. Rate, foie et sang avirulents.

Poule 522, vaccinée par un vaccin composé de rate glycinée maintenue sept et trois jours à 37°, le 8 et le 12 novembre 1930. Exposée à la même épizootie que la précédente, le 26 novembre, elle meurt le 21 décembre. Le cerveau tue en sept jours. La rate injectée à 577 est avirulente. Mise en volière le 18 janvier, 577 meurt le 31 janvier. Le foie injecté à 594 est avirulent. Mise en volière le 18 janvier, 594 meurt le 1^{er} février.

Par contre 530, injectée de X (voir plus haut) à deux reprises, meurt avec rate et cerveau avirulents: on en conclut, avec vérifications supplémentaires, que le cerveau de X n'immunise pas.

De même N (voir plus haut) qui a d'abord guéri d'une maladie spontanée reste en volière et meurt le 3 janvier avec cerveau avirulent et rate tuant en neuf jours.

Par contre, plusieurs essais sont faits sur des poules vaccinées avec du foie glyciné. Si on emploie à deux reprises du foie complètement atténué, la poule ne paraît pas incommodée, mais si la deuxième injection est faite avec du foie partiellement atténué, elle suffit à déclencher la mort. A l'encontre des poules neuves qui, à cette époque, ont le cerveau avirulent, elles ont le cerveau et la rate avirulents. A titre d'exemple :

Poule 610, a reçu successivement le 17 janvier 1931 du foie mis six jours à 37° dans la glycérine, et, le 24 janvier, du foie mis trois jours à 37°; elle meurt le 2 février avec tête bouffie, gros foie et viscères injectés. Le cerveau est virulent et tue en quatre jours, la rate en six jours.

L'injection de foie auto-stérilisé, même au plus fort de la période d'auto-stérilisation suffit à empêcher l'avirulence du cerveau, à un moment où les poules non préparées l'ont auto-stérilisé.

Poule 549, meurt le 25 décembre, après avoir reçu deux injections de foie de X auto-stérilisé et avirulent à frais, laissé six jours et trois jours à 37° le 30 novembre et le 4 décembre; mise en volière le 8 décembre. Le cerveau tue en quatre jours, la rate en huit jours.

Voici un exemple où la rate tue à retardement.

Poule 561 reçoit une injection de cerveau frais de poule, le 11 décembre 1930; le 18 décembre, elle reçoit, par erreur, une injection de cerveau virulent et meurt le 25 décembre. Le cerveau injecté frais tue en cinq jours. La rate injectée le même jour à 583 la tue en douze jours, soit le 6 janvier, avec cerveau avirulent et rate virulente.

Mais ces faits que l'on pourrait grouper sous le nom « d'auto-stérilisation mortelle des poules immunisées » ne sont pas aussi réguliers que les précédents.

Ainsi dans la peste aviaire d'Égypte, l'élimination du virus réintroduit chez une poule immunisée — auto-stérilisation d'immunisation — se fait par étapes successives avec passage par un stade immunisant qui semble particulier à cette infection.

Il est probable que dans les différentes infections à ultravirus, la disparition du virus obéit à des déterminismes très divers et qu'il est trop tôt pour en établir une théorie générale en présence des faits peu nombreux et divergents qui pourraient lui servir de base.

CHAPITRE IV

ÉPIDÉMIOLOGIE

On peut prendre pour point de départ de l'étude de l'épidémiologie de la peste aviaire d'Égypte, ces deux notions vulgaires, qu'une épidémie déclarée dans une basse-cour tue toutes les volailles, jusqu'à la dernière, et que la maladie est saisonnière.

Evolution des épidémies.

La peste aviaire d'Égypte est si répandue dans le pays qu'il n'y a guère de gens possédant une basse-cour, si réduite soit-elle, qui ne l'aient vu balayée, au moins une fois, par une épizootie foudroyante qui généralement fait table rase en très peu de jours, sinon en quelques heures.

Nous-même au laboratoire sommes régulièrement témoins des ravages de cette maladie. Nous achetons nos poules, soigneusement triées à des fournisseurs réguliers, par lots de 10 à 12 et les répartissons en cages séparées, généralement par 2. Or, dès le lendemain ou plusieurs jours après, des morts se produisent, qui se succèdent rapidement, et si le lot n'était pas divisé dès son arrivée au laboratoire, il y passerait tout entier. Même malgré ces précautions, il n'est pas exceptionnel que la mortalité, à certaines périodes, approche ou atteigne le 100 p. 100.

Comment s'expliquer cette explosion épidémique?

La ville de Suez avec ses 45.000 habitants consomme, en

moyenne, 2.000 poules par semaine. Celles-ci arrivent en grande majorité de Haute-Egypte par chemin de fer, entassées dans des cages à claire-voie en feuilles de dattier; si une poule devient malade, elle a le temps d'infecter ses voisines et, dans les vingt-quatre à quarante-huit heures nécessaires pour que les animaux soient vendus au marché ou par les marchands ambulants, l'épizootie est répandue et la maladie se déclare dès après l'arrivée au laboratoire.

Au contraire, si on parvient à se procurer des volailles de la campagne de Suez, où les petites exploitations agricoles sont échelonnées le long du canal d'eau douce, même au fort de l'épidémie on a des lots indemnes ou très peu contaminés; ici, l'infection est endémique ou sporadique. Cependant, les petites basses-cours fermées sont également exposées à la contagion quand on y introduit des poules paraissant indemnes; des témoins assurent même qu'on peut voir l'épidémie éclater sans introduction de volailles dans de petits élevages parfaitement isolés; une fois déclarée, il est de règle qu'elle détruise en peu de jours tout le poulailier jusqu'à la dernière poule, fait qui cadre avec la mortalité quasi absolue de nos inoculations expérimentales. Dans la mesure cependant de nos observations, il semble que l'apparition de l'épidémie soit liée à l'introduction dans un milieu indemne d'un porteur sain ou d'un animal en incubation.

M^{me} M..., à Port-Thewfik, a une basse-cour bien isolée de la route, bien entretenue depuis plusieurs années, où depuis dix mois elle conserve 18 poules et 1 coq en partie arrivés en ligne droite de Chypre, en partie poules indigènes.

Le 1^{er} mars 1930, elle achète à un marchand ambulant 3 poules paraissant en bon état; elle les met ensemble dans une caisse à plus de 10 mètres de sa basse-cour, derrière la maison, de manière que les 2 poulailiers soient séparés par l'immeuble.

Le 10 mars, elle les met avec les autres poules, après avoir constaté qu'elles sont en parfaite santé. Le 15, 5 poules sont malades, elles appartiennent toutes à l'ancien élevage, 2 meurent le même jour. Aussitôt on isole les malades, on badigeonne le poulailier à la chaux et on lâche toute la basse-cour dans le potager dans l'espoir de voir arrêter l'épidémie. Pendant cinq jours, pas de nouvelles malades, puis l'épidémie reprend, les 3 poules importées dernièrement sont touchées (donc, après les anciennes et plus de quinze jours après leur arrivée); le 23 mars, il reste une poule apparemment saine, qui devient malade le lendemain, et le coq, qui, lui aussi, a déjà la crête violacée. A ce moment, on introduit 3 poules vaccinées du laboratoire. Toutes les autres meurent, le coq traîne; puis va mieux, le 30, 31 mars il

est guéri; le 13 avril, il mange le foie entier d'une poule infectée et résiste; de même nos poules vaccinées.

Nous voyons confirmer ici l'observation courante que l'épizootie une fois déclarée balaie tout un poulailleur; cependant, un animal résiste et il acquiert l'immunité. Nous retrouverons ce fait tout à l'heure.

Les nouvelles poules qui ont pris la maladie après les anciennes avaient dû être en contact direct ou indirect avec des poules malades et devenir *porteuses de germes*; ou bien elles étaient restées saines, c'est-à-dire étaient de vrais porteuses saines, ou bien elles avaient fait une atteinte assez bénigne pour ne pas entraîner l'immunité, et leur permettre de convoyer du virus, ce qui, nous le verrons plus tard, ne semble pas être le cas chez des poules guéries et immunisées, ou bien enfin, on peut supposer qu'elles étaient en incubation prolongée; où finit l'incubation et où commence le porteur de germes? c'est peut-être une question de mots.

En voici un autre exemple :

Un lot de 10 poules est acheté dans les fermes indigènes des environs de Suez, mis dans une cage commune et envoyé au laboratoire le 10 avril 1930. Aussitôt les poules qui n'ont pas séjourné tout un jour dans leur panier toutes ensemble, sont isolées une par une. Le cinquième jour, première mort, le douzième jour, deuxième décès sans symptômes la veille, le cerveau de la deuxième poule morte est inoculé à 1 poule neuve et la tue en cinq jours, injecté à 2 poules immunisées il réinfecte leur cerveau (voir plus haut). Cette durée d'incubation, sinon isolée, au moins exceptionnelle, montre que l'incubation peut se prolonger jusqu'à douze jours.

Il serait intéressant de noter l'influence des infections associées. La variole aviaire, très fréquente par moments, n'a pas d'influence décelable sur le cours de la maladie; par contre, la diphtérie aviaire, très rare, sensibilise fortement les animaux inoculés de virus pestique. Nous n'avons pas rencontré un seul cas de choléra des poules.

Mais quand on serre de près l'enquête, on apprend que la mortalité des épizooties n'est pas toujours aussi générale. Parfois il resterait quelques poules qui ne sont pas atteintes.

Le seul cas que nous ayons eu sous les yeux est le suivant :

M^{me} H... a une basse-cour de 17 poules indigènes très bien entretenue. Au début de juin 1930, elle achète 14 poules apparemment saines et les met dans

une grande cage distante de sa volière. Tous les jours, elle nettoie successivement basse-cour et volière, et pendant ce temps, elle laisse successivement aussi sortir les volailles dans une même courette ombragée, sans qu'elles entrent en contact direct les unes avec les autres. Après au moins douze jours pendant lesquels le nouveau lot n'a montré aucune mortalité, elle laisse les 2 groupes de poules se retrouver en même temps dans la courette; trois jours après, les 2 groupes sont infectés. Le lot des 17 poules anciennes est balayé en quelques jours jusqu'au dernier (le coq mourant le dernier); en même temps du nouveau lot, il meurt 9 poules et il en reste 5, 2 coqs et 3 poules jeunes qui suivis pendant plusieurs jours ne montrent aucun symptôme.

La contagion n'a donc pas pu s'opérer par des germes infectieux disséminés dans un terrain où passent successivement des volailles, mais dès que les poules se sont trouvées en même temps sur le même terrain c'est-à-dire en *contact direct*, l'infection latente chez les premières s'est transmise aux secondes. Il faut également admettre la présence du germe chez les premières et les appeler des porteuses saines.

Il nous a été possible d'expérimenter sur une de ces poules ayant ainsi *spontanément* résisté à la contagion et n'ayant pas manifesté le moindre symptôme. Or, cette poule a avalé deux fois impunément du foie infectieux. Elle succombe plus tard à une infection sous-cutanée de 1/500 de sang virulent.

Nous n'avons observé de nos yeux que cette seule épizootie où il est resté des poules spontanément indemnes, mais cette observation se trouve confirmée par des témoignages dignes de créance.

Jamais, au laboratoire, nous n'avons trouvé de poules résistantes parmi les animaux neufs.

Il ressort de ces deux expériences une autre notion que nous avons plusieurs fois remarquée, c'est l'influence du groupement.

Dans le premier cas, 3 poules; dans le deuxième cas, 14 poules restent indemnes; mais il suffit de les mêler à un groupe plus nombreux pour voir éclater l'épizootie.

D'autres fois, il nous est arrivé que des poules maintenues dix jours et davantage à raison de 2 par cage restaient parfaitement saines, mais si on les remettait ensemble dans une volière commune, il se produisait des cas.

Ceci montre une fois de plus combien il est indispensable d'opérer sur des poules parfaitement isolées au cours d'expériences sur la peste aviaire d'Egypte.

VACCINATION EN MILIEU ENDÉMIQUE.

Pour avoir des poules immunisées, nous décidons de les injecter dès leur arrivée au laboratoire sans attendre qu'elles aient fini leur période d'observation, par la méthode de vaccination en un temps par cerveau immunisant de poule immunisée.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — 8 poules apparemment saines reçoivent le 17 mai 1930, dès leur arrivée, une injection sous-cutanée d'un cerveau glycériné auto-stérilisé essayé en même temps sur un témoin, qui montre que ce vaccin est immunisant. Elles sont laissées ensemble dans une volière.

Le 20 mai : 2 sont malades, meurent le 21.

Le 23 mai : 1 est malade et meurt le même jour.

Le 26 mai : les 5 restantes reçoivent dans le pectoral du cerveau desséché

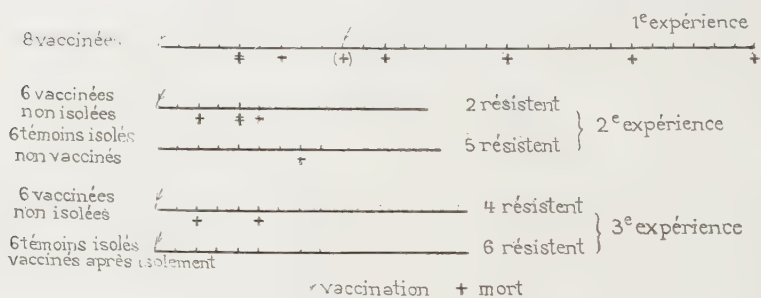


FIG. 3.

six jours à 37° (première méthode). 1 meurt une minute après. Il en reste 4.

Le 28 mai : 1 est morte, sans symptômes la veille.

Le 2 juin : 1 est malade, meurt le 3 juin.

Le 8 juin : 1 meurt sans symptômes.

Le 14 juin : la dernière meurt.

DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — L'expérience suivante (faite avec un vaccin plus actif) est plus claire parce qu'il n'y a qu'une injection.

Le 23 juin, on vaccine avec un mélange de 2 cerveaux auto-stérilisés glycérinés, 6 poules arrivées la veille au soir et laissées toute la nuit avec 5 autres qui serviront de témoins.

Les témoins sont isolés par 2 et donnent 1 mort le 30 juin.

Les vaccinées laissées ensemble donnent 1 mort sans symptômes le troisième jour, 2 morts le cinquième jour, avec symptômes dès la veille, et 1 mort le sixième jour.

2 poules isolées préalablement avaient été vaccinées avec le même mélange sans mortalité.

Une troisième expérience du même genre donne des résultats comparables. En voici un résumé dans le tableau ci-dessus.

Comme il a été dit plus haut, la méthode de vaccination employée ici protège après quarante-huit heures. Dans l'expérience numéro 1, nous avons deux injections vaccinales successives; à la faveur de celles-ci, la mortalité se poursuit et aboutit à un chiffre exceptionnel de 100 p. 100 en un mois. Dans les expériences 2 et 3, nous constatons qu'il y a plus de morts chez les vaccinées sans quarantaine que chez les témoins ou chez les vaccinées isolées d'abord.

On est donc en droit de se demander si parmi les poules il n'y a pas des porteuses saines qui se stérilisent dans des conditions favorables, mais qui peuvent amorcer une épidémie si elles sont soumises à des circonstances défavorables, telles qu'une infection intercurrente, une vaccination où grâce à l'encombrement, qui semble être un facteur de première importance dans l'épidémiologie de la peste aviaire d'Égypte.

Mais ce qui est remarquable, c'est que ces porteurs sains d'un virus qui ne pardonne pas ne sont pas immunisés; au contraire, à plusieurs reprises, nous avons remis des poules immunisées ou récemment guéries avec des poules neuves et jamais elles n'ont introduit la maladie.

Avant de passer à nos épidémies expérimentales, nous voudrions résumer notre conception de l'épidémiologie de la peste aviaire d'Égypte dans un exposé d'ensemble.

1° En Égypte, il ne nous paraît guère devoir exister à aucun moment de milieu parfaitement indemne, à part des élevages strictement isolés et surveillés.

2° D'une façon générale, les élevages indigènes paraissent — et probablement à tout moment de l'année — infectés de porteurs sains. Vienne un trouble quelconque, et ceux-ci pourront ranimer le virus latent et le transmettre à leur entourage. Ce trouble sera soit un changement de saison, soit un transport avec la privation d'eau et la chaleur et surtout l'encombrement qui en sont inséparables, soit un mélange de l'élevage avec des volailles étrangères entraînant des coups de bec et des batailles, soit enfin une infection intercurrente ou une injection sensibilisante de vaccin qui sensibilisera un des membres de la communauté.

Mais il y a encore à considérer divers degrés de la maladie.

3° Il existe certainement des infections fugaces, à peine

appréciables, où, pendant quelques heures, on croit voir des symptômes de début, tristesse, attitude figée, etc. Elles sont particulièrement fréquentes l'hiver, quand le matin, tôt, les poules isolées dans leur cage sans perchoir, grelottent de froid. Mais, tantôt ce trouble passager disparaît quand le soleil les a réchauffées, tantôt il s'aggrave et aboutit à une infection caractérisée. Le diagnostic individuel de tels cas est évidemment fort difficile; mais une étude attentive et prolongée entraîne la conviction que ces cas ne sont pas rares.

4° Nous verrons plus loin au cours des épidémies expérimentales et à propos de la variation de virus, des cas de maladie indiscutables ayant été jusqu'à la phase nerveuse, qui ont abouti à la guérison spontanée, tantôt dans les formes plus légères, sans immunité consécutive, tantôt, si l'atteinte a été plus sérieuse, avec immunité persistante: mais ces faits sont rarissimes.

5° Dans la presque totalité des cas, l'évolution est inexorable et la contagion fatale.

Nos observations nous portent à croire que les porteurs de germes [2] sont très dangereux, que les cas frustes [3] et les cas mortels [5] le sont également; au contraire, le petit nombre de cas guéris que nous avons observés [4] ont été incapables de transmettre la maladie. Si paradoxale que paraisse cette constatation, il est intéressant de la rapprocher de celle que nous avons faite plus haut, à savoir que les cas surinfectés dont le système nerveux est virulent ne sont pas non plus contagieux.

ÉPIDÉMIOLOGIE EXPÉRIMENTALE.

Pour débrouiller le côté mystérieux et apparemment contradictoire de tous ces faits d'observation, il convient de recourir aux méthodes de l'épidémiologie expérimentale; on réalise ainsi des conditions relativement simples et autant que possible comparables. Au lieu d'observer les contagions en masse, on les suit en série.

Toutes les poules, pour ces expériences comme pour les autres, doivent être soumises à un isolement de huit à dix jours au moins. Si après cette quarantaine, une poule paraît bien portante, on peut l'employer sans crainte; si l'une d'une cage

à deux devient malade, il faut enlever la poule indemne, la mettre dans une cage propre et renouveler la période d'observation. Nos cages sont des cylindres de tôles recouverts d'un treillis métalliques ou des cages à parois de treillis à larges mailles; après usage, elles sont lavées à grande eau et laissées au moins vingt-quatre heures au grand soleil de Suez avant de servir de nouveau; ce traitement ne nous a jamais donné d'accidents chez des poules garanties par leur quarantaine.

Nous avons relaté précédemment les résultats de ces expériences. Reprenons-en une en détail.

Epidémie n° 2 du 24 mars à la mi-mai 1929.

Poule 101 : est introduite dans la cage de 89, malade, qui est trouvée morte le 25 mars.

Le 28 mars, 101 est malade avec l'attitude caractéristique, morte le 29 mars.

Poule 108 : le 28 mars est mise avec 101; malade le 1^{er} avril, morte le 2 avril.

Poule 117 : le 1^{er} avril est mise avec 108; malade le 5 avril, meurt le 6 avril.

Poule 122 : le 5 avril est mise avec 117; malade le 9 avril, meurt le 11 avril.

Poule 126 : le 9 avril est mise avec 122; malade le 12 avril, meurt le 14 avril.

Poule 120 : le 12 avril est mise avec 126; malade le 17 avril, sacrifiée *in extremis* le 19 avril.

Poule 128 : le 17 avril est mise avec 120; malade le 27 avril; le 28 avril, elle est nettement mieux, la queue se redresse, elle guérit.

Poule 142 : est mise avec 128 le 27 avril, c'est-à-dire le jour où 128 donne des signes de maladie; elle reste indemne. Cependant, remise en milieu contagieux, plus tard elle meurt.

Cette épidémie peut se traduire par le schéma suivant :

89	→	101	→	108	→	117	→	122	→	126	→	120	→	128	→	142
+ 3 ^e j.		+ 3 ^e j.		+ 5 ^e j.		+ 5 ^e j.		+ 6 ^e j.		+ 5 ^e j.		+ 7 ^e j.		Malade.		Résiste.
														Le 10 ^e j.,		
														guérit.		

Nous avons constaté la virulence du sang ou du cerveau de chacune des poules mortes. Le sang de la poule 120 s'est montré virulent au 1/500 au moins.

Donc après un certain nombre de passages, une poule infectée peut guérir. Dans une deuxième épidémie expérimentale, où la dernière poule touchée a guéri, nous avons pu constater dans des conditions irréprochables, d'abord sa résistance partielle à une première contagion et ensuite sa sensibilité à une nou-

velle contagion : dans ce deuxième cas, l'infection guérie avait été nettement moins forte que dans l'épidémie relatée plus haut.

II. — Influences saisonnières.

Il est généralement admis en Egypte que l'épizootie qui décime les volailles est une maladie de la saison froide. Le fait est que le froid semble favoriser l'éclosion des infections à symptômes bruyants et correspond partiellement à la plus grande fréquence de l'infection. Mais l'arrivée des chaleurs n'arrête nullement la vague épidémique. Si nous devions figurer par une courbe l'ensemble des observations que nous avons poursuivies pendant trois ans, cette ligne s'élèverait avec le nombre des morts de décembre à mai inclus (le mois le plus chaud de l'année) pour descendre très bas, sinon à 0, pendant les mois d'été et d'automne. Mais nous craignons de donner l'apparence de la précision à des phénomènes qui n'en comportent guère et nos observations démontrent surtout qu'il faut se garder sur ce sujet de généralisations trop hâtives.

Nos expériences commencées en mars 1928 à Alexandrie, reprises en août de la même année à Suez jusqu'en 1931, nous permettent de fixer les dates suivantes.

A Suez, d'août à décembre 1928, il est impossible de trouver une poule infectée. Les expériences sont faites avec un virus isolé au printemps à Alexandrie ; le 11 décembre arrive la première poule malade et tout un lot acheté en même temps est sévèrement décimé ; l'endémie continue, prenant 2 à 7 sur 10 poules sur les lots achetés successivement au marché, à raison de 30 en moyenne par mois. Le virus est stable et régulier et tue en quatre à cinq jours par inoculation intramusculaire ou sous-cutanée. Au début de la saison, on observe 2 ou 3 cas d'infection auto-stérilisée en un mois de temps (voir plus haut).

Dès le début de juin 1929, la mortalité cesse parmi les poules neuves, mais en même temps se produit un nouveau phénomène ; les poules inoculées meurent régulièrement en deux jours à deux jours et demi. Du 15 juillet au 10 novembre, les expériences sont interrompues. A ce moment, la maladie spontanée a disparu et les poules inoculées expérimentalement meurent

toujours en deux jours. Nous examinerons tout à l'heure le phénomène dont il s'agit.

Le 12 décembre, nous obtenons la première poule spontanément malade que nous cherchions depuis un mois. La mort arrive de nouveau après cinq jours et le changement de régime est brusque. Tout l'hiver 1929-1930, l'épidémie sévit; nos expériences s'étant poursuivies sans interruption jusqu'à la fin de l'année, nous avons constaté qu'à partir du mois d'août il y a une forte baisse dans la morbidité, qui s'accroît jusque vers la fin octobre où on n'observe jamais plus d'une mort sur 40 poules et après une incubation très longue. En novembre, 2 morts seulement, parmi le lot en observation et grâce aux primes offertes, il en vient quelques rares du marché; toutes ces poules, reçues avant l'agonie, présentent les symptômes typiques, une autopsie négative, le cerveau et généralement les autres organes ainsi que les excréta avirulents et le contrôle bactériologique est négatif pour tout autre germe pathogène; dans ce cas la seule preuve de peste aviaire est l'action immunisante du cerveau. Deux poules mortes d'inoculation virulente ont également le cerveau avirulent. Le 40 décembre, on reçoit du marché une poule malade dont l'autopsie est positive et le cerveau virulent, deux autres de même les jours qui suivent, mais l'épizootie ne se déclare — et brusquement — que le 28 décembre. De fin décembre à fin avril il y a des poules malades, mais il n'y a pas eu une seule malade de maladie spontanée dans notre poulailler. Ces faits ont été discutés au chapitre III.

Le phénomène observé en juin-novembre 1929 est sûrement le résultat d'une variation, c'est peut-être le résultat d'une variation saisonnière, ce n'est certainement pas un fait régulier dans la périodicité saisonnière de l'infection comme nous l'avions d'abord pensé, car il ne s'est manifesté qu'une fois sur trois saisons observées. Nous en avons fait une étude spéciale. Voici 3 expériences qui le caractérisent nettement.

A. Virus sang de la poule 57, conservé en glacière depuis le 13 février 1929; à frais a tué en cinq jours; le 16 novembre 1929 à la dose de 0 c. 1, il tue en moins de trois jours au passage suivant; 0 c. 01 de sang mélangé à divers organes sains tue des poules neuves isolées préalablement en deux jours et demi, deux jours et demi et trois jours et demi et ceci à un moment où il est impossible de trouver une poule malade sur le marché.

B. Ce même virus 57 réinoculé en décembre 1929 et janvier 1930 tue en cinq jours.

C. Le virus de passage de novembre repris en février 1930 tue encore en deux jours.

Ainsi, on ne peut prétendre que c'est le virus qui a changé spontanément, puisque deux mois plus tard, il se montre normal, et on penserait à attribuer aux poules la cause de la variation comme si les tissus atteints par le virus avaient subi un changement, qui est peut-être lui-même saisonnier. Mais ce virus ayant tué en deux jours garde ses qualités à un moment où le virus du dehors est redevenu normal et tue en cinq jours d'une façon régulière.

1° Ainsi, pendant six mois, la maladie spontanée a disparu ; on s'attendrait volontiers à observer une atténuation du virus et, au contraire, par inoculation ou ingestion, on obtient la mort en deux jours. Cette modification s'accompagne d'autres changements.

2° La dose mortelle s'abaisse considérablement. Du 1/5.000, elle passe au 1/200.000. On assiste à une véritable dépolymérisation du virus.

Le 8 décembre 1928, on inocule le sang de 234 morte en quarante-six heures sous la peau de :

241 à la dose de 1/10.000, mort le 10 décembre après-midi (53 heures).

240 à la dose de 1/50.000, mort le 10 décembre après-midi (53 heures).

239 à la dose de 1/100.000, malade le 10, ne meurt que le 13 décembre, matin (4 jours).

238 à la dose de 1/300.000, malade le 11 et le 12, paraît mieux les 13, 14, 15, 16, se remet progressivement, le 17, a une allure parfaitement normale et guérit ; c'est le seul cas de guérison spontanée, après inoculation, que nous ayons observé.

Le 13 décembre, l'expérience parallèle est faite avec une poule 239 morte au cinquième jour (virus normal) ; l'inoculation tue en moins de trois jours, mais le 1/50.000, le 1/200.000 et le 1/1.000.000 de centimètre cube de sang ne tuent pas.

En février 1930, le virus 320 (mort en deux jours) tue au 1/200.000 en cinquante et une heures après deux mois de conservation en glacière.

3° Le virus variant est beaucoup plus résistant à la dessiccation que le virus normal.

Cerveau de 303 desséché sept jours à 37° tue 325 en deux jours et demi.

Cerveau de 303 desséché dix jours à 37° tue 327 en moins de quarante-huit heures.

Cerveau de 303 desséché quinze jours, injecté à 329, ne tue plus.

1° La contagion de poule à poule ne se fait plus; elle se produit péniblement si plusieurs poules sont réunies.

Epidémie IV, le 21 novembre 1929.

216, 218 et 219 malades à la suite d'expériences diverses sont mises ensemble dans une cage avec 170, immunisée, et 220, poule neuve. Voici le résumé de l'expérience :

216	{	220.	{	221, 222, résistent sans symptômes.
218		A peine malade,		
219		guérit sans immunité.		

On ne peut s'empêcher de comparer au virus de la peste aviaire ce virus tuant au 1/200.000 en quarante-huit heures avec un minimum de symptômes et doué d'une contagiosité très faible. L'identité est d'autant plus recevable que le virus de la peste aviaire d'Egypte tuant en cinq jours à dose beaucoup plus forte immunise contre la peste aviaire, et réciproquement.

M. Staub de l'Institut Pasteur a eu l'obligeance de nous envoyer du virus authentique avec lequel nous avons observé l'immunité croisée avec la peste aviaire d'Egypte. D'autre part, M. T. M. Doyle du ministère de l'Agriculture de Londres a bien voulu nous confirmer que le virus que nous lui avions envoyé à sa demande était « sérologiquement identique » aux virus de peste aviaire qu'il entretient à son laboratoire et diffère, par conséquent, du virus de la maladie de Newcastle avec lequel la longue durée de l'infection offrait quelque analogie.

Poule 49 vaccinée par une injection de cerveau n° 43 (auto-stérilisée) reçoit le 26 janvier 1929 0 c. c. 25 de virus de rate glycinée de 43, virulente et le 4 mars 0 c. c. 03 de virus-sang de peste aviaire et résiste, alors que le témoin meurt en cinquante et une heures.

En présence de cette variation, notre première idée avait été que si l'endémie disparaissait pendant l'été en Egypte, c'était par suite des changements divers que nous venons d'enregistrer; l'été on se trouvait ainsi en présence d'une nouvelle infection non viable par manque de contagion: viennent à changer certaines conditions climatiques et le virus changeant de caractère, l'infection redevenait contagieuse. Les données sur 1928 ne permettaient pas de se prononcer, mais en 1930, à un moment où nos observations se sont poursui-

vies toute l'année sans interruption, le fait ne s'est pas répété.

La diminution de morbidité et de mortalité de la peste aviaire n'est donc pas attribuable à un mécanisme unique.

A un point de vue biologique plus général, l'observation de cette variation de virus dans les circonstances qui viennent d'être signalées nous paraît des plus intéressantes.

III. — La peste aviaire d'Égypte est-elle contagieuse?

En Europe et aux Etats-Unis, on n'a pas trouvé d'explication définitive à la transmission de la peste aviaire. Les travaux de Marchoux [22], de Doerr et Pick [4], nient la contagion. Doerr et Zdansky [2], bien qu'ayant réussi à transmettre la maladie *per os* dans 15 p. 100 des cas, expérimentalement, concluent que « l'infection *per os* ne joue probablement aucun rôle dans les conditions naturelles ». La cohabitation n'a pas non plus permis à ces auteurs de réaliser l'infection spontanée.

La dernière hypothèse tentée par Ch. Todd pour expliquer la contagion par voie sexuelle ne nous paraît pas à retenir. Quand on introduit une poule malade dans une basse-cour, elle est régulièrement accueillie à coups de bec. On peut évidemment supposer que le coq lui fasse un autre accueil, pendant la période d'incubation ou qu'un coq en incubation puisse saillir des poules saines. Mais si Todd a réussi trois fois sur onze la transmission de coq à poule ou inversement, il serait intéressant de savoir dans quelle proportion il aurait obtenu la transmission entre volailles de même sexe. C'est l'expérience témoin qui semble avoir été oubliée. Le contact sexuel, s'il a eu lieu, et l'auteur n'est pas explicite à ce sujet, n'empêche pas d'ailleurs les autres contacts.

Nous avons montré précédemment [43] comment la peste aviaire d'Égypte mérite d'être distinguée de la peste d'Europe. Depuis, nous avons vu que les deux virus donnent l'immunité croisée, mais la contagiosité est très différente dans les deux variétés de peste aviaire.

En effet, la maladie d'Égypte se transmet régulièrement par ingestion de virus et par cohabitation. Les expériences qui précèdent ont fait mention des exceptions, à savoir :

a) Pour la cohabitation, une expérience précitée, le virus 1929 et les fins d'épizootie ;

b) Pour l'ingestion de virus, les foies virulents par injection et avirulents par ingestion à la suite de certaines infections atténuées, les cas d'auto-stérilisation et la filtration des organes virulents.

Mais ces exceptions, que nous rappelons pour montrer qu'elles ne nous ont pas échappé, confirment cette règle presque absolue que, dans des conditions normales, la cohabitation pendant vingt-quatre heures d'une poule saine avec une poule malade provoque une infection mortelle et rapidement transmissible, et l'ingestion de virus-foie, rate, cerveau, sang, fientes donne un résultat identique. Si on ajoute à cela que la peste d'Egypte évolue en cinq jours au lieu de deux, allongeant la période d'élimination des matières diarrhéiques et d'abondantes sécrétions respiratoires, il paraît aussi simple que logique de considérer la peste aviaire d'Egypte comme une maladie se transmettant par voie digestive.

Mais à cette manière de voir s'oppose une constatation formelle. Quand des poules immunisées sont exposées à une épizootie, nous avons vu que sans aucun symptôme extérieur leur cerveau redevient virulent à l'exception des autres organes. Au contraire, si des poules immunisées mangent une forte quantité de virus, leur cerveau ne devient pas virulent, mais d'emblée il devient immunisant. Par quelle autre voie serait-il donc possible de rendre virulent le cerveau d'une poule immunisée? On y arrive, nous l'avons vu plus haut, par injection sous-cutanée de virus.

Alors de deux choses l'une, ou l'intervention d'un parasite piqueur réalise l'introduction sous-cutanée du virus, où il existe des voies naturelles de pénétration du virus capables de rendre sa virulence au cerveau d'une poule immunisée.

Logiquement, il convient de chercher au plus simple : on peut infecter une poule de manières très diverses : le dépôt d'une goutte de sang, même dilué, dans les narines, sur l'œil, sur le cloaque, sur la peau nue, *sans les léser aucunement*, provoque la mort à coup sûr. Nous avons essayé ces diverses voies d'accès.

1° La peste aviaire d'Egypte serait-elle transmise par voie

respiratoire? C'est peu probable, étant donné l'obstacle que crée un simple treillis à larges mailles. Le dépôt d'une goutte de sang sur les narines chez une poule immunisée rend le cerveau immunisant mais non virulent. Craignant que des narines le sang n'ait gagné le tube digestif, on a injecté le virus directement dans la trachée à travers une boutonnière de la peau du cou. Mais le cerveau reste indifférent.

2° La voie oculaire ne réussit pas mieux.

3° La friction sur la peau nue d'un tampon d'ouate imprégné de sang virulent ne réactive pas davantage le cerveau. Il est bien démontré que la friction de virus sur la peau nue, sous l'aile, est un moyen sûr d'infection et pourtant il nous a été impossible d'infecter par friction d'un cadavre contre une poule saine, même en promenant vigoureusement contre les plumes d'une poule neuve la tête ou le bec d'une poule ayant eu un exsudat nasal abondant.

4° Le dépôt de sang virulent sur le cloaque est une épreuve sûrement mortelle, mais qui ne réactive pas le cerveau d'une poule immunisée. Ajoutons, en réponse à la théorie de Ch. Todd, que nos épizooties expérimentales de peste aviaire d'Egypte se sont déroulées entre poules, éliminant ainsi la possibilité d'une infection par voie sexuelle.

En résumé, l'ingestion de virus par une poule immunisée rend son cerveau immunisant (voir plus haut), les autres voies directes d'introduction le laissent indifférent ou faiblement immunisant. Aucune méthode directe ne rend le cerveau virulent.

Ayant ainsi éliminé par l'expérience successivement toutes les possibilités de contact direct, on est amené à rechercher si les parasites sont capables de provoquer la virulence du cerveau en faisant pénétrer le virus sous la peau.

En raison du fait que l'introduction d'une poule malade ou porteur de germes dans un poulailier déclenche l'épizootie, il faut admettre que parmi les parasites possibles, ce sont les parasites du corps qui interviennent (poux); les parasites attachés au gîte (argasidés) et les parasites nomades (moustiques et mouches piqueuses) étant exclus.

L'observation montre que vingt-quatre et trente-six heures après la mort, on trouve les poux encore vivants sur le cadavre

de leur hôte. S'il est possible qu'une partie ait émigré, il en reste encore une grande quantité et la plupart ont à ce moment quitté le contact immédiat de la peau pour se porter sur le bord superficiel des plumes. Au lieu de se sauver, si on cherche à les capturer, ils semblent disposés à quitter le cadavre refroidi pour se porter sur la main. Pendant ces vingt-quatre à trente-six heures, ils pondent encore.

On peut à la rigueur admettre que dans un laboratoire bien tenu, où les cages sont lavées à grande eau après usage et où les cadavres sont enlevés aussitôt que possible après la mort, on ne laisse pas aux poux le temps de quitter l'hôte mort pour chercher à gagner les hôtes voisins. On peut, à la rigueur, supposer que grâce à l'encombrement et au contact direct, l'échange des poux soit favorisé et, par suite, la diffusion du virus. Les porteurs de germes seraient dans ces conditions des porteurs de poux infectés qui n'auraient pas infecté leur hôte (on se demande pourquoi), mais seraient capables d'infecter un hôte nouveau sur lequel ils passeraient par simple caprice. Ces poux seraient donc capables de retenir le virus vivant pendant plusieurs jours. Il est difficile d'expliquer dans ces conditions comment une poule récemment guérie ne transmet pas la maladie. D'autre part, bien que la maladie soit régulièrement transmissible, il nous est arrivé souvent de trouver des cadavres absolument privés de parasites. Si peu engageante que paraisse donc l'hypothèse d'une transmission par les insectes piqueurs, il faut pourtant l'éprouver.

Nous avons à plusieurs reprises porté des poux (de 15 à 40 à la fois) de poules mortes infectées sur des poules saines : ces poux étaient bien vivants et n'ont pas été touchés, étant enlevés avec la plume à laquelle ils étaient accrochés et déposés sous l'aile de la poule immobilisée. Or, tous ces essais ont été négatifs. Ne signalons que pour mémoire les thrombididés qui sont très rares et qui, pas plus que les argasidés absents ne trouveraient guère de gîte convenable dans les cages à fond métallique ou dans un enclos à sol cimenté. Quant aux moustiques, ils n'ont été abondants au laboratoire que pendant l'automne 1930 à un moment où la peste aviaire était très rare ; d'une façon générale, la périodicité saisonnière de la peste aviaire est inverse des saisons où pourraient abonder les moustiques.

Ajoutons enfin que nous avons percuté fortement — et sans succès — la tête de nos poules en expérience, pour nous assurer que le traumatisme ne jouait aucun rôle favorisant sur la réactivation du cerveau.

Ainsi l'expérience se déclare — d'accord avec l'observation — contre le rôle transmetteur des parasites. Puisque la clinique nous pousse à accepter le transfert direct du virus, nous sommes autorisés à supposer que la peste aviaire d'Egypte se transmet par contagion directe, mais sans pouvoir préciser davantage et sous réserve de la réaction du cerveau, qui chez une poule immunisée devient virulent après contagion et ne le devient jamais après une réinfection artificielle ne traversant pas la peau.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS (1).

1° La peste aviaire affecte, en Egypte, un type spécial qui mérite d'être distingué de la peste aviaire classique; elle évolue beaucoup plus lentement (cinq jours pour la maladie expérimentale); elle est très contagieuse par contact et par ingestion; cependant, les deux virus donnent l'immunité croisée. C'est une septicémie mortelle qui envahit d'abord le système circulatoire et les diverses excréctions et plus tardivement le névraxe; à la mort, tous les organes sont virulents. Le virus prélevé dans les divers organes ou tissus présente des modalités reconnaissables par filtration, vieillissement, chauffage, mode d'administration, et les virus modifiés provoquent des infections modifiées.

Le virus a été étudié au point de sa résistance à divers agents physiques ou chimiques. Il est transmissible au moineau; le pigeon, le canard, l'oie sont expérimentalement réfractaires. La dose mortelle ne dépasse pas 1/10.000 de centimètre cube.

2° L'immunité naturelle et l'immunité naturellement acquise n'existent pratiquement pas. On réalise une solide immunité en injectant à la poule deux doses successives de virus cerveau atténué par dessiccation pendant six, puis trois jours. Le virus-

(1) Y compris les faits essentiels publiés précédemment et qu'il a paru inutile de répéter, ici, pour éviter d'allonger ce mémoire.

œuf et le virus-testicule donnent le même résultat; la rate et le foie desséchés ne donnent pas d'immunité.

Cette spécificité tissulaire du vaccin s'élargit dans l'atténuation par le formol ou la glycérine. La rate formolée ou glycerinée immunise parfaitement. Par contre, le foie atténué par dessiccation, le formol ou la glycérine n'a jamais donné l'immunité.

3° Exceptionnellement, on observe des infections spontanées ou produites expérimentalement où au moment de la mort, le cerveau est avirulent; les autres organes étant généralement virulents. La mort se produit dans les délais normaux. Injecté à frais, ce cerveau avirulent immunise.

On a trouvé 3 cas en décembre 1928-janvier 1929, puis des cas nouveaux en assez grand nombre et pour ainsi dire à volonté de novembre 1930 à février 1931. Au cours de cette dernière période, on a eu l'impression d'une vague épidémique au cours de laquelle l'évolution de la maladie était plus ou moins troublée. Dans un certain nombre de cas, le virus était absent du cerveau et des organes et le cerveau immunisait mal et irrégulièrement. Progressivement, les cas se sont reproduits avec rate virulente, cerveau immunisant, puis se sont montrés plus rares pour disparaître complètement en mars 1931. Le fait pourrait pouvoir s'expliquer que par l'existence d'un principe antagoniste du virus, à périodicité saisonnière qui, après que les lésions cellulaires ont été produites, neutraliserait le virus *in situ*. Dans 4 cas, le cerveau immunisant est redevenu virulent après un vieillissement de deux mois.

4° Si une poule immunisée est fortement réinfectée, elle peut devenir malade et mourir. Dans ce cas, généralement, le virus se retrouve au cerveau seul. Elle peut aussi faire une maladie légère ou grave et guérir. Dans ce cas, dès la guérison amorcée, le virus disparaît rapidement. Mais, le plus souvent, elle ne fait pas de réaction visible. Si la réinfection s'est faite par contagion ou par injection, le virus se porte rapidement au cerveau qui devient virulent, quelques jours plus tard immunisant, enfin indifférent. Si la réinfection se fait par ingestion; le cerveau devient immunisant d'emblée, puis après quelques jours perd son pouvoir immunisant. Les autres voies de réinfection ne donnent au cerveau qu'un pouvoir immuni-

sant médiocre ou nul. Ces réactions sont indépendantes des facteurs saisonniers.

5° Malgré la mortalité quasi absolue de la peste aviaire d'Egypte déclarée, on y trouve des porteurs de germes sains et non immunisés. Avant la période cliniquement décelable de la maladie, ils sont sensibles à une injection vaccinale et, au contraire, se stérilisent spontanément par isolement prolongé. Ils jouent un rôle important et mal connu dans l'épidémiologie de l'infection.

6° On peut réaliser expérimentalement des épizooties en série qui toujours s'arrêtent au bout d'un certain nombre de passages, sans que le virus perde expérimentalement de sa virulence.

7° La peste aviaire d'Egypte règne régulièrement de décembre à mai-juin; elle est rare ou absente en été et en automne. Sur trois années d'observation dans des conditions identiques à Suez, on a observé, à deux reprises, qu'à la fin de la période indemne ou au début de la période épidémique, intervenait le facteur d'auto-stérilisation saisonnière étudié précédemment; on n'a pas jusqu'à présent compris sa relation avec la périodicité de l'épizootie. En 1929, pendant les six mois d'été et d'automne, ce phénomène ne s'est pas manifesté et la peste aviaire avait disparu. En même temps, la maladie expérimentale mettait en évidence une variation du virus qui rendait la peste aviaire d'Egypte absolument méconnaissable de la peste aviaire vraie. Bien que ce virus fût stable et ait pu se conserver, la maladie a repris ses caractères habituels dès la première quinzaine de décembre.

8° Cliniquement, la peste aviaire d'Egypte paraît bien être une maladie contagieuse par contact direct sous réserve que, chez les poules immunisées, aucune infection artificielle, sauf par injection sous-cutanée, n'a pu rendre le cerveau virulent comme le contact direct dans les conditions naturelles. Les parasites n'ont pu transmettre la maladie. Il n'a été tenu compte que des poux; étant donné que l'épizootie peut être déclenchée par une poule saine conservée plusieurs jours isolée et que la maladie est hautement transmissible, ce sont les seuls parasites *du corps* qui, étant donnée leur fréquence, puissent être soupçonnés. Ces soupçons paraissent injustifiés.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] R. DOERR et R. PICK. *Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig.*, **76**, 1915, p. 476.
- [2] R. DOERR et E. ZDANSKY. *Zeitschr. f. Hygiene*, **101**, n° 2, 1923, p. 125.
- [3] T. M. DOYLE. *Journ. of. Comp. Path. et Therap.*, vol. XL, Part. 2, juin 1927, p. 144.
- [4] P. GASTINEL, V. STEFANESCO et REILLY. *C. R. Soc. Biol.*, **106**, 14 février 1934, p. 450.
- [5] F. GERLACH, Handbuch der pathogenen Microorganismen, Kolle, Kraus et Uhlenhuth. Article Geflügelpest.
- [6] GILDEMEISTER et HERZBERG. *Klin. Wochenschr.*, 1927.
- [7] E. HINDLE. *Proc. R. Soc. Lond. Séries B.*, vol. CIV, n° 733, 1929, p. 537 et *Brit. Med.*, **JI**, n° 3518, 9 juin 1928, d'après *Bull. Pasteur*.
- [8] R. R. HYDE et E. I. PARSONS. *Journ. of Immunology*, vol. XII, n° 4, 1926.
- [9] C. IONESCO-MIHAESTI, A. TUPA et B. WISNER. *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 2 juin 1928, p. 12.
- [10] C. IONESCO-MIHAESTI, A. TUPA et MESROBEANU. *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 7 février 1929, p. 919.
- [11] H. JACOTOT. *Bull. Path. Exot.*, **22**, mai 1929.
- [12] R. KRAUS et SCHIFFMANN. *Zentralbl. f. Bakt.*, **43**, p. 325.
- [13] E. LAGRANGE. *Bull. Soc. Path. Exot.*, **22**, février 1929.
- [14] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **100**, 23 février 1929, p. 544.
- [15] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **102**, 19 octobre 1929, p. 278.
- [16] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 18 janvier 1930, p. 142.
- [17] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 22 mars 1930, p. 979.
- [18] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **104**, 18 juillet 1930, p. 1161.
- [19] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 18 juillet 1930, p. 1161.
- [20] E. LAGRANGE. *C. R. Soc. Biol.*, **107**, 18 juillet 1930, p. 1161.
- [21] C. LEVADITI, V. SANCHIS, BAYARRI et SCHOEN. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 24 mars 1928, p. 911.
- [22] E. MARCHOUX. *C. R. Soc. Biol.*, **68**, 1910, p. 346.
- [23] S. NICOLAU. *C. R. Soc. Biol.*, **105**, 18 octobre 1930, p. 177.
- [24] S. NICOLAU et I. A. GALLOWAY. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 15 mars 1930, p. 852.
- [25] S. NICOLAU, P. GUIRAUD et KOPSCIOWSKA. *C. R. Soc. Biol.*, **101**, 1^{er} juin 1929, p. 338.
- [26] S. NICOLAU, P. GUIRAUD et KOPSCIOWSKA, **104**, 5 juillet 1930, p. 965.
- [27] PERDRAU. *Brit. Journ. of exp. Path.*, **6**, 1925, p. 123.
- [28] PERDRAU et DA FANO. *Journ. of Path. et Bact.*, **30**, 1927, p. 67.
- [29] W. K. PICARD. *Ned. Indie Bladen v. Diergeneeskunden*, **40**, 1928, p. 1 et 42, 1930, p. 1.
- [30] P. SCHWEITZER. *Archiv f. Hygiene*, **59**, 1922, p. 286 (cité d'après Ch. Todd).
- [31] A. STAUB. *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 1926, p. 1193.
- [32] A. STAUB. *C. R. Soc. Biol.*, **103**, 1930, p. 294.
- [33] CH. TODD. *Brit. Journ. of exp. Path.*, **8**, 1927, p. 369.
- [34] CH. TODD. *Journ. of exp. Path.*, **9**, 1928, p. 19 et 101.

Le Gérant : G. MASSON.



